

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

ZUR ÄTIOLOGIE MORPHOLOGISCHER UND
FUNKTIONELLER VERÄNDERUNGEN DER
DÜNNDARMSCHLEIMHAUT BEIM EXPERIMENTELLEN
DIABETES MELLITUS DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

FRANZ THIEL
aus Kronsdorf

1976

Marburg 1975

Druck: Görlich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

ZUR ÄTIOLOGIE MORPHOLOGISCHER UND
FUNKTIONELLER VERÄNDERUNGEN DER
DÜNNDARMSCHLEIMHAUT BEIM EXPERIMENTELLEN
DIABETES MELLITUS DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

FRANZ THIEL

aus Kronsdorf

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 23.1.1976

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof.Dr.H. Oepen

Referent: Prof.Dr. E.O. Riecken

Correferent: Prof. Dr. Dr. H.-J. Hering

Meinen Eltern in Dankbarkeit
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seiten
A. Einleitung und Fragestellung	1-3
B. Material und Methoden	4-26
C. Ergebnisse - Korrelationen	
a.) Körpergewicht der Tiere	27-28
b.) Futtermenge	29-30
c.) Blutzucker	30-31
d.) Resorption von Glucose und Methionin	31-36
e.) Morphologie I	37-46
f.) Morphologie II	47-65
g.) Biochemische Befunde	
1. Disaccharidasen	66-71
2. Dipeptidasen	72-80
D. Diskussion	81-85
E. Zusammenfassung	86-87
F. Verzeichnis der benutzten Abkürzungen	88
G. Literaturverzeichnis	89-95



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Hyperlipämie und Gefäßkomplikationen bestimmen im wesentlichen den klinischen Verlauf des Diabetes mellitus beim Menschen.

Als pathogenetische Ursachen sind neben den bekannten Stoffwechsel-relevanten Wirkungen des Insulins in den letzten Jahren zunehmend auch intestinale Faktoren diskutiert worden

(DOWLING et al., 1967; DOWLING und RIECKEN, 1973; u.a.). Einen Hinweis in dieser Richtung gibt der Befund, nach dem Patienten mit einheimischer Sprue und Diabetes mellitus über den Beobachtungszeitraum mehrerer Jahrzehnte keine Zeichen von Gefäßkomplikationen zeigen (RIECKEN et al., 1969). Der diesem Phänomen zugrunde liegende Mechanismus ist am ehesten in der beim Sprue-Patienten erheblich eingeschränkten resorptiven Kapazität des Dünndarms zu vermuten.

Mit dem experimentell durch Alloxanintoxikation induzierbaren Diabetes mellitus ergibt sich ein interessantes Modell zur Analyse der Beziehung zwischen der intestinalen Resorptionskapazität und den Strukturen der resorbierenden Schleimhaut.

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Ergebnissen zum experimentellen Diabetes mellitus publiziert worden (CRANE, 1961; FLORES und SCHEDL, 1968; LEVINSON und ENGLERT, 1970; u.a.). Unmittelbar nach Intoxikation mit Beta-Zytotoxinen kommt es zu einem raschen Ansteigen der Resorptionsleistung für verschiedene aktiv transportierte Substanzen wie auch zu einem adäquaten Anstieg der spezifischen Aktivität verschiedener Disaccharidasen und Dipeptidasen (OLSEN und ROSENBERG, 1970; OLSEN, 1973;

CASPARY, 1972; EICHHOLZ, 1968; MILLER und CRANE, 1961). Eine Beziehung zwischen diesen Veränderungen und der Morphologie der resorbierenden Oberfläche besteht zu diesem Zeitpunkt des Diabetes mellitus nicht. Zur Interpretation dieser Veränderungen liegen bislang noch keine gesicherten Befunde vor. Während der späteren Phasen des Diabetes mellitus ist andererseits eine Vergrößerung der resorbierenden Oberfläche, die dem Anstieg der in vitro gemessenen Resorption proportional ist, beschrieben worden (SCHEDL und WILSON, 1971; LORENZ-MEYER, 1974).

Die vorliegende Arbeit stellt sich die Aufgabe, zu folgenden bisher nicht geklärten Fragen Stellung zu nehmen:

1. Welche Beziehung besteht zwischen der in vivo gemessenen Resorption von Glucose und Methionin und den intestinalen Enzymaktivitäten? Wie verhalten sich diese Parameter zur effektiv resorbierenden Oberfläche?
2. Lassen sich durch das Studium der formalen Pathogenese der in der Spätphase beim experimentellen Diabetes mellitus beschriebenen Schleimhautveränderungen Rückschlüsse auf deren Ursachen gewinnen?

Zu diesen Fragen soll unter Verwendung morphologischer und zellkinetischer Untersuchungstechniken Stellung genommen werden.

Die Ergebnisse einer im Labor von Prof. Riecken kürzlich abgeschlossenen Studie (FRIEDRICH u.a.) über die Beziehung zwischen Blutzucker und Glucoseresorption legten eine mögliche Beeinflussung der intestinalen Glucoseresorption durch den deutlich erhöhten Blutzucker nahe. Darüber hinaus unterstützt eine von Robinson (ROBINSON et al., 1973) aufgestellte Hypothese

den Gedanken, daß die Funktion des in vitro gemessenen intestinalen Transports weniger in der primär resorptiven Leistung als vielmehr in der Verhinderung einer passiven Rückdiffusion in das Darmlumen zu sehen ist. Die eigentliche Resorption verschiedener Zucker und Aminosäuren erfolgt nach dieser Hypothese vorrangig über eine Diffusion durch die intrazellulären Spalten.

Ergänzende in vivo Perfusionsversuche am Dünndarm der Ratte mit Glucose- und Methionin-Lösungen ohne und mit Zusatz von Phlorizin (-einem potenten Hemmer des aktiven Glucose-Transports-) sollten zu dieser Hypothese Stellung nehmen.

MATERIAL UND METHODEN

Untersuchungsgut

Weibliche Wistarratten von 170-260 Gramm Gewicht dienten als Versuchstiere. Die alloxandiabetischen Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten, die eine Bestimmung der täglichen Futtermenge zuließen. Die Ernährung bestand aus gemahlener Altromin Standarddiät für Ratten und Mäuse und Leitungswasser ad libitum. Es wurden sechs Kollektive festgelegt; davon standen jeweils zwei als diabetische Gruppe und als Kontrollgruppe in Beziehung zueinander:

Gruppe 1 } : Tiere, die durch Gabe von 80 mg/kg Alloxan (Merck)
Gruppe 2 } gelöst in 0,1 M Na-PO₄-Puffer pH 7,4 in die Vena
 femoralis diabetisch gemacht wurden (Frerichs und
 Creutzfeldt, 1969). Der Diabetes bestand 20 Tage.
Gruppe 0 : Gleichgewichtige Kontrolltiere

20 Tage nach Alloxanintoxikation wurden zwei diabetische Kollektive und zwei gesunde Kontrollgruppen unter Verwendung eines offenen Perfusionssystems (s.u.) perfundiert und morphometrische sowie biochemische Untersuchungen an der Dünndarmschleimhaut durchgeführt. Die zwei übrigen Kollektive wurden einer besonderen Untersuchungsmethode (s.u. 'Clarke'sche Methode') zur Bestimmung der Morphologie und Zellkinetik der Dünndarmschleimhaut unterzogen.

I. Glucose- und Methioninresorption

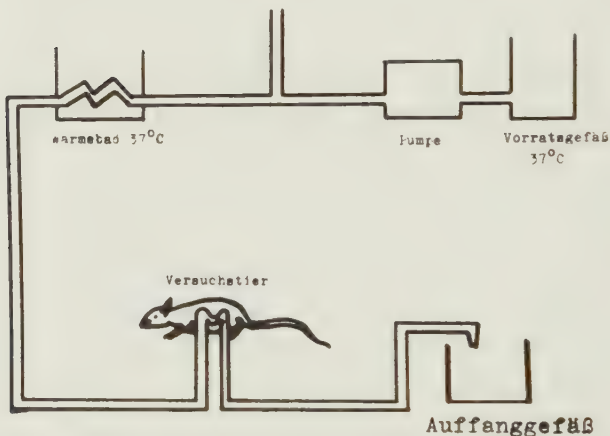
1. Technik der Resorptionsbestimmung

Unter Äthernarkose wurde nach medianer Laparatomie ca. 6cm unterhalb des Ligamentum Treitz ein Latex-Schlauch von 4mm Durchmesser als zuführender Teil nach Abbinden des proximalen Darmabschnittes und 20-25cm weiter distal nach Abbinden des Darmes ein ableitender Schlauch implantiert. Durchspülen des Darmsegmentes mit Ringerlösung (37°C), Herausführen der Schläuche aus der Bauchhöhle, Verschluß derselben durch einige Kopfnähte. Danach wurden die Tiere in einem Immobilisationskäfig fixiert. Ungefähr $3/4$ Stunde nach Ende der Narkose wurde mit der Perfusion begonnen.

Zur Bestimmung der Resorption von Glucose und Methionin im Jejunum wurde ein offenes Perfusionssystem gewählt (s. Skizze). Zunächst wurden eine 30mM Glucoselösung isotonisch in Ringerlösung (900 ml Ringerlösung auf 1000 ml A.dest. aufgefüllt) und 0,06mM Phenolrot bei 37°C aus einem vorgewogenen Bechergesäß mit ca. 2,4 ml/min unter Zwischenschaltung eines druckausgleichenden Steigrohres und unter Verwendung einer Peristaltikpumpe durch das gewählte Segment perfundiert. Anschließend wurde eine 30mM Methioninlösung isotonisch in Ringerlösung (960 ml Ringerlösung auf 1000 ml A.dest. aufgefüllt) und 0,06mM Phenolrot unter den gleichen Bedingungen durch dasselbe Segment perfundiert. Phlorizin (0,5mM) wurde bei zwei Kollektiven den Perfusionslösungen zugesetzt. Das wieder austretende Perfusat wurde in einem vorgewogenem Sammelbecher aufgefangen. Auf eine Vorperiode von 20 Min. zur Erreichung eines Gleichgewichtszustandes folgte die ei-

gentliche, 30 Min. dauernde Perfusion. Während dieser Zeit wurden 7 Einzelproben (ca. 1,5 ml) in vorgewogenen Eppendorf-Reaktionsgefäßen entnommen. Sie dienten als Stichproben der Resorption über den gewählten Zeitraum, um eine Aussage über die Streuung der Resorption machen zu können.

Nach Beendigung der Perfusion Entnahme 0,05 ml Blut aus der Schwanzvene zur Blutzuckerbestimmung (o-Toluidin-Methode nach Hyvärinen und Nikkilä, 1962).



Skizze zur Technik der in vivo Perfusion mit dem offenen Perfusionssystem zur Messung der Resorption von Glucose und Methionin im Dünndarm.

2. Bestimmung der Fläche des perfundierten Darmsegmentes

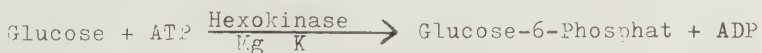
Nach der Perfusion wurde das Darmsegment vom Mesenterium abpräpariert und in 4°C temperierte 0,9 % NaCl gelegt, um Muskelkontraktionen zu verhindern. Längs des Mesenterialansatzes wurde das Segment aufgeschnitten, der Mucus entfernt, und der Mucosaseite auf ein gewichtskonstantes Spezialpapier (Fa. Schleicher und Schüll, Einbeck) übertragen. Das Präparat wurde nun mit einer durch Ringerlösung verdünnten Methyleneblaulösung übersprüht. Nach Ablösen des Darmsegmentes war dessen Fläche deutlich erkennbar. Der noch anhaftende Schleim wurde entfernt, der der Fläche des Darms entsprechende farbstofffreie Teil ausgeschnitten, in einem Brutschrank bei 30°C getrocknet und anschließend das Gewicht bestimmt. Es wurde eine (Gewichts-Flächen) Eichkurve erstellt, mit welcher die dem Gewicht des Papiers **proportionale** Fläche des perfundierten Darmsegments berechnet wurde.

3. Bestimmung der Glucose

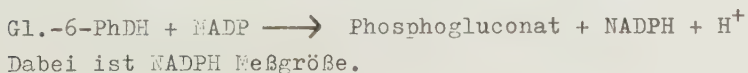
Die aufgefangenen Perfusionsproben werden auf ihren Glucosegehalt hin durch die Hexokinase-Methode nach Schmidt (1961, 1963) überprüft.

Prinzip:

Glucose wird in Anwesenheit von ATP phosphoryliert:



In Gegenwart von Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und NADP läuft folgende Reaktion ab:



Substanzen:

- ATP, NADP, Hexokinase (10mg/ml), Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (10mg/ml). (Fa. Boehringer)
- 0,3M Triäthanolaminpuffer pH 7,5 (MolGew 185,65) 55,69g Triäthanolaminhydrochlorid und 4M MgSO_4 (0,985g) werden in 200ml A.dest. gelöst, mit N/1 NaOH der pH-Wert mit dem Glaselektroden-pH-Meter auf 7,5 eingestellt und mit A.dest. auf 1000ml aufgefüllt.
- 12mM NADP (MolGew 743,42) in A.dest.
- 16mM ATP (MolGew 507, 19) in A.dest.
- Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Lösung — 0,2ml Hexokinase (10mg/ml) und 0,4ml Glucose-6-PDH (10mg/ml) werden mit 1,4ml 3,1M Ammoniumsulfatlösung in einem Gefäß gemischt.

Ausführung:

2,675ml Triäthanolaminpuffer pH 7,5 werden mit 0,15ml 16mM ATP-Lösung, 0,15ml 12mM NADP-Lösung und 0,025ml Perfusat in ein Reagenzglas pipettiert.

Messen der Extinktion im Eppendorf-Photometer (Fa. Ketheler und Hinz, Hamburg) bei 366nm.

Nach Bestimmung der Vorextinktion in 1cm weiten Glasküvetten werden 0,02ml Hexokinase-Glucose-6-PDH-Lösung hinzugegeben. 15Min. lang Inkubation im Wasserbad bei 37°C. Messen der Extinktion bei 366nm. ΔE entsprechend dem Glucosegehalt ergibt die Differenz von Extinktion und Vorextinktion ($\Delta E = E_2 - E_1$).

4. Bestimmung des L-Methionin

Der im Perfusat vorhandene Methioningehalt wird durch die L-Aminosäure-Oxydase, einem Flavoprotein, bestimmt.

Prinzip:

Oxydative Desaminierung der L-Aminosäuren durch L-Aminosäure-Oxydasen, Übertragung der H_2 -Atome über die Peroxydase auf o-Dianisidin.

Substanzen:

L-Aminosäure-Oxydase(Sigma) (5mg/ml 0,01M Na-Phosphatpuffer pH 7,4 - KCl Gemisch), o-Dianisidin, Peroxydase-Triton x 100- Puffer-Gemisch.

- 0,01M Na-Phosphatpuffer pH 7,4 - KCl: Gemisch aus 0,2M $Na_2PO_4 \cdot 2 H_2O$ (MolGew 156,01) in ca. 80ml A.dest. + 0,2M Na_2PO_4 (MolGew 141,96) in ca. 420ml A.dest. unter Zugabe von 74,54mg KCl mit A.dest. auf 1000ml aufgefüllt.
- 0,1M K-Phosphatpuffer pH 7,4: Gemisch aus 0,1M KH_2PO_4 (MolGew 136,09) in ca. 19ml A.dest. + 0,1M Na_2HPO_4 (MolGew 141,96) in ca. 81ml A.dest.
- o-Dianisidin(1ml/100ml 90%iges Äthanol)
- Peroxydase-Triton x 100-Puffer-Gemisch, bestehend aus 0,04g Peroxydase + 2ml Triton x 100 gelöst in 8ml Äthanol abs. + 1000ml 0,01M Na-Phosphatpuffer pH 7,4.

Ausführung:

0,1ml Perfusat werden mit 0,9ml Ringerlösung verdünnt; davon werden 0,025ml für die Probe genommen und nach Zugabe von 1ml 0,1M KPO_4 -Puffer pH 7,4, 0,5ml o-Dianisidin-Peroxydase-Triton x 100-Puffer-Gemisch und

0,025ml Enzymlösung(L-Aminosäure-Oxydase) 30Min.
lang in einem Wasserbad bei 37°C inkubiert.
Anschließend Messung der Extinktion-entsprechend dem
Methioningehalt im Perfusat- in 1cm-Küvetten bei 1/2
Volumen bei 436nm gegen einen Blank-Wert(1ml 0,1M
KPO₄-Puffer pH 7,4 +0,5ml o-Dianisidin-Triton x 100-
Puffer-Gemisch + 0,025ml A.dest.).

5. Bestimmung der Wasserresorption

Zur Bestimmung der Wasserresorption in den einzelnen Proben,
wird Phenolrot als nicht resorbierbare Substanz der Perfusi-
onslösung in einer Konzentration von 0,06mM zugesetzt. Aus
der für Phenolrot charakteristischen Extinktion bei 560nm
unter Abzug des Mittelwertes aus den unspezifischen Extink-
tionen von 520nm und 600nm (Miller und Schedl, 1972) errech-
net sich ein Faktor, welcher der durch die Wasserresorption
entstandenen Konzentrationsänderung der Glucose entspricht.

Ausführung nach Miller und Schedl (1972):

0,2ml des Perfusats werden in ein Reagenzglas zu
2,8ml 0,2M Trispuffer pH 8,5 gegeben. Nach Durch-
schütteln Messung der Extinktion mit dem Eppendorf-
Photometer (Fa. Netheler und Hinz, Hamburg) bei
520, 560 und 600nm gegen einen Leerwert mit 0,2ml
A.dest. und 2,8ml 0,2M Trispuffer.

Durch Vergleich der Phenolrotkonzentration in der
Ausgangslösung des Perfusats mit den Konzentrationen
der während der Perfusion aufgefangenen Einzelproben

läßt sich die resorbierte Wassermenge errechnen.
Durch Einbeziehung der Wasserresorption in die Berechnung der resorbierten Glucose wird die durch die Wasserresorption hervorgerufene Glucosekonzentrationsänderung in den Einzelproben berücksichtigt.

6. Berechnung

- a) Berechnung der durch Wasserresorption bedingten Veränderung der Extinktion

$$560 - \frac{520+600}{2} = \text{Extinktion der Phenolrotprobe}$$

Faktor der Konzentrationsänderung :

$$F = \frac{\text{Ext. der PR-Einzelprobe}}{\text{Ext. der PR-Ausgangslösung}}$$

Durch diesen Faktor, der der Wasserresorption proportional ist, muß der ermittelte Wert der Extinktion der Einzelproben bei der Glucosebestimmung dividiert werden.

Beispiel:

ΔE der Ausgangslösung: 0,975

ΔE der Einzelproben : 0,800

Faktor der Konzentrationsänderung: 1,18

0,8 : 1,18 = 0,717 = korrigierter Wert

0,975-0,717 = 0,285 = korrigiertes ΔE der resorbierten Glucose

- b) Berechnung der resorbierten Glucose pro Minute und Fläche

Eichfaktor der HK-Gl-6-PDH-Methode = 0,844

Verdünnungsfaktor = 40

$$\Delta E \cdot 0,844 \cdot 40 = \text{mM resorbierte Glucose} \cdot 10^{-3} / \text{ml perfundierte Flüssigkeit}$$

$$\text{resorbierte Glucose/min} = \text{mM Glucose} \cdot 10^{-3} / \text{ml} \cdot \text{perfundierte ml/min}$$

$$\text{resorbierte Glucose/min cm}^2 = \frac{\text{mM} \cdot 10^{-3} \text{ res. Glucose/ml} \cdot \text{perfundierte ml/min}}{\text{cm}^2 \text{ Resorptionsfläche}}$$

c) Berechnung des resorbierten Methionin pro Minute und Fläche

Richfaktor der L-Aminosäuren-Peroxydase-Methode = 0,164

Verdünnungsfaktor = 40

Rechengang s.o. res. Glucose $\hat{=}$ res. Methionin

II. Morphologie und Morphometrie

1. Methode zur morphometrischen Bestimmung der Dünndarmschleimhautstrukturen (Menge et. al., 1970)

Nach der Perfusion wurde ein ca. 1cm langes Darmstück cranial des abgebundenen Darmsegmentes entnommen und in 10%igem filtrierten Formalin fixiert. Nach Einbettung in Paraffin bei 56°C wurden Schnitte (4mm dick) mit dem Schlittenmikrotom (Fa. Leitz, Wetzlar) angefertigt und eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung durchgeführt.

Morphometrische Auswertung :

Vermessen der histologischen Präparate mit einem biokkularen Lichtmikroskop (Fa. Leitz, Wetzlar) mit geeichter Skala, und zwar folgende Parameter:

- a) Zottenhöhe (Kryptenmund - Zottenspitze)
- b) Kryptentiefe (Kryptenmund - Kryptenbasis)
- c) Epithelzellhöhe (jeweils in der Zottenmitte gemessen)
- d) Zottenbreite (jeweils in der Zottenmitte gemessen)

10 Einzelmessungen wurden pro 2cm Darmsegment durchgeführt. Der Mittewert und die Standardabweichung des Mittelwertes sind in $\text{mm} \cdot 10^{-3}$ angegeben.

2. Methode zur Erfassung der Dünndarmschleimhautstruktur und Zellproliferation (Clarke, R., 1970)

- a) 1mg/kg Körpergewicht an Vincristin (Lilly), einem Hemmer der Mitose in der Metaphase, wird in Wasser gelöst intra-

peritoneal 2 Stunden vor Tötung der Ratten gespritzt.

- b) Nach 2 Stunden Herausnahme des Dünndarms, Abpräparation des Mesenteriums und Durchspülen mit 0,9%iger NaCl-Lösung bei Raumtemperatur.
- c) Messung der Länge. Abbinden des distalen Endes, Auffüllen des abgebundenen Sackes mit einer Lösung aus absolutem Alkohol-Athanol(3 Teile) und Eisessig(1 Teil)- und zwar mit 0,15ml/cm Darm.(Druck = konstant 32cm Säule des Fixativs $\hat{=}$ 30cm Wassersäule)
- d) Abbinden des oberen Darmendes, Fixierung des Präparats im gleichen Fixativ (24 Stunden lang).
- e) Danach Einschneiden von Drainagelöchern in den Darm und Durchspülen mit 75%igem Äthanol und Speicherung so lange wie gewünscht in Alkohol (75%ig).
- f) Aufschneiden des Darms entlang dem Mesenterialansatz, absteigend über 50%igen Alkohol in Wasser (je 15Min.lang); danach Feulgen-Blockfärbung:
 - 5Min.lang Hydrolyse mit N/1 HCl bei 60°C
 - Waschen in Wasser
 - Einbringen in Schiffs Reagenz für mindestens 1 Stunde
- g) Einbringen des Gewebes in eine flache Schale aus Perspex, **darin Lagerung in Schiffs Reagenz**, Abdecken mit einem Kunststoffdeckglas. Die Serosa wird dabei nach oben gewendet, so daß man von der Serosa her auf das Präparat sieht.
- h) Betrachtung unter dem Stereo-Zoom-Mikroskop (Fa. Bausch & Lomb, Frankfurt/M). Einstellung auf die Kryptenebene und Photographie mit am Mikroskop angebrachter **Kleinbild-Kamera bei 20facher Vergrößerung**. Danach Einstellung auf die Zottenebene und Photographie bei **20facher Vergrößerung**.

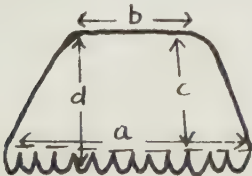
Zählung und Auswertung: Erstellung des Krypten/Zottenindex -
Ermittlung der Zahl der Krypten in einem Quadrat der Photos von 3,5cm Kantenlänge, entsprechend einem Quadratmillimeter Serosa;
Ermittlung der Zotten entsprechend, jedoch Auswertung des $8\frac{1}{2}$ fachen Areals, um repräsentativere Zahlen zu erhalten.

- i) Mikrodissektion von einzelnen Zotten mit dazugehörigen Krypten unter dem Stereomikroskop. Ausmessung der Zotten und Krypten an diesen Präparaten (jeweils 10 Zotten mit zugehörigen Krypten).
- j) Dissektion von 10 individuellen Krypten pro Präparat, Übertragung auf ein Deckglas, Aufgeben eines Tropfen Schiff's Reagenz, vorsichtiges Wenden des Deckglases und Aufbringen auf einen Objektträger. Zählung der Metaphasen pro Krypte.

Unter Verwendung dieser Methode wurde bei einem Kollektiv von 9 alloxandibetischen Ratten und den dazugehörigen Kontrollen die Dünndarmschleimhautstruktur und Zellkinetik erfasst.

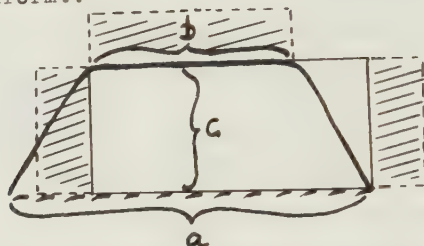
3. Methode zur Berechnung der resorbierenden Oberfläche der Zotten

- a) Wir messen die folgenden Parameter der Zotte unter dem Stereomikroskop:



- a= Zottenbasis
- b= Zottenspitze
- c= Zottenhöhe
- d= Zottenhöhe+Kryptentiefe

- b) Die Oberfläche wird berechnet, indem man ein Trapez in ein Rechteck umformt:



Die Oberfläche von 2 Zottenseiten ist dann:

$$x = a - \left(\frac{a-b}{2}\right) \cdot c \cdot 2$$

- c) Die Oberfläche der Zotte von oben betrachtet wird zu der berechneten Oberfläche addiert, indem man den Durchmesser der Zotte gleich $2r$ setzt (r =Radius eines Kreises ) und denselben mißt.

a. $2 \cdot c \cdot \pi r$

b. $a - \left(\frac{a-b}{2}\right) \cdot \pi r$

s.o. Skizze

III. Biochemische Untersuchungen

Nach Abspülen des Larmsegments in 4°C temperierter $0,9\%\text{NaCl}$ wurde die Mucosa mit einem Objektträger im stumpfen Winkel abgeschabt. Das so gewonnene Material wurde in Parafilm-Folie (Serva) bis zum Zeitpunkt der Verarbeitung eingefroren und luftdicht bei -24°C gelagert.

1. Bestimmung der Disaccharidasenaktivität im Rohhomogenat der Rattenmucosa

a) Lactase und Saccharase

Nach Wiegen und Homogenisieren der abgeschabten Mucosa im Glaspotter in 4°C temperierter 0,9%NaCl-Lösung wurden Saccharase- und Lactaseaktivität nach einer von Dahlquist (1964) angegebenen Methode mit Trisglucoseoxydasereagenz (TGO) bestimmt.

Prinzip:

Das im Homogenat vorhandene Enzym spaltet einen Teil des angebotenen Disaccharidssubstrates. Die dadurch freigesetzte Glucose wird bestimmt: Während der Dehydrierung der Glucose durch Glucoseoxydase wird Hydrogenperoxyd gebildet, das durch Peroxydase gespalten wird. Dabei wird o-Dianisidin oxydiert, was mit einer stöchiometrischen Farbänderung verbunden ist. Trispuffer ist notwendig, um anfällige Disaccharidasen in der Glucoseoxydase zu hemmen.

Reagenzien:

Glucoseoxydase (Sigma)

Peroxydase (Sigma)

Triton-x-100 (Serva)

o-Dianisidin (Merck)

- 0,5M Trishydroxymethylaminomethan-Puffer pH 7,8

MolGew 121,14

- 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8

Maleinsäureanhydrid MolGew 98,06

Einstellen des pH mit 0,2N NaOH mit dem Gaselektroden-pH-Meter

- o-Dianisidin-Lösung

Lösen von 1g o-Dianisidin in 100ml 95%igem Äthanol

- 20% Triton-x-100 in 95%iger Äthanol-Lösung

2ml Triton-x-100 und 8ml 95%iges Äthanol werden gemischt.

- Trisglucoseoxydasereagenz (TGO)

0,125g Glucoseoxydase, 0,02g Peroxydase, 10ml einer 20%igen Triton-x-100 in 95%iger Äthanol-Lösung werden in ein Gefäß gegeben. Mit 0,5M Trispuffer pH 7,0 wird auf 100ml aufgefüllt.

- Trisglucoseoxydase-o-Dianisidin-Reagenz

Jeweils vor Gebrauch werden 100ml von diesem Reagenz (TGO) und 0,5ml o-Dianisidin-Lösung angesetzt.

- Substrat-Pufferlösungen

50mM Saccharose in 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8

100mM Lactose in 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8

Ausführung:

Herstellen einer Homogenatlösung, 50mg/ml durch Wiegen der abgeschabten Mucosa und Hinzufügen einer entsprechenden Menge von 4°C temperierter 0,9%iger NaCl. Homogenisieren der Mucosa im Eisbad. Von diesem Homogenat wurden 0,05ml in vorgewärmten Reagenzgläsern im Wasserbad (37°C) mit 0,15ml Substratpufferlösung gegeben und exakt 15Min. inkubiert. Inaktivieren des Enzyms durch 2,5Min. Kochen. Kühlen der Reagenzgläser in kaltem Wasser, Einbringen von 0,5ml TGO-o-Dianisidin-reagenz und Inkubieren im Wasser-

bad (37°C) 60Min. lang. Anschließend Messen der Extinktion im Photometer (Fa. Netheler & Hinz, Hamburg) gegen einen Leerwert von 0,2ml A.dest. und 2,5ml TGO-o-Dianisidin-Reagenz bei 436nm.

Bei der Bestimmung der Saccharaseaktivität wurde als Substratpufferlösung 0,15ml 50mM Saccharose in 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8 verwendet.

Bei der Lactaseaktivität: 0,15ml 100mM Lactose in 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8.

Berechnung der freigesetzten Glucose pro ml Rohhomogenat und min:

$$\frac{\Delta E \cdot \text{Eichfaktor}(0,3) \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{min der Inkubationszeit}} = \text{mM } 10^{-3} / \text{ml} \cdot \text{min}$$

Nach der Bestimmung der freigesetzten Glucose erfolgt die Messung des Proteingehalts pro ml Rohhomogenat.

b) Maltase

Die Bestimmung der bei der Einwirkung der im Rohhomogenat enthaltenen Maltase auf das Substrat Maltose freigewordenen Glucose erfolgte nach der von Schmidt (1961, 1963) angegebenen Hexokinase-Methode, wie schon bei der Glucosebestimmung ausgeführt.

Reagenzien:

ATP, NADP, Hexokinase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Boehringer), 0,3M Triäthanolamin-Puffer pH 7,5

Herstellen einer Substrat-Puffer-Lösung:

0,5M Maltose in 0,2M Na-Maleat-Puffer pH 5,8

Ausführung:

Einbringen von 0,05ml Rohhomogenat in Reagenzgläser, welche im Wasserbad (37°C) vorgewärmt wurden, unter Zusatz 0,05ml Substrat-Puffer-Lösung. Eine Minute später Inaktivieren der Maltase in kochendem Wasser für 2,5Min.. Bestimmung der während der Inkubationszeit durch die Maltase freigesetzten Glucose nach der Hexokinase-Methode. (s.o. Bestimmung der Glucose)

Es folgt die Bestimmung des Proteingehalts des Homogenats nach Lowry (1951).

Berechnung:

Bei der Berechnung der spezifischen Aktivität muß berücksichtigt werden, daß die Maltase das Molekül Maltose in zwei Moleküle Glucose spaltet; d.h. das ermittelte Ergebnis muß durch zwei dividiert werden.

Freigesetzte Glucose pro min in 1ml Rohhomogenat:

$$\Delta E \cdot \text{Eichfaktor (0,844)} \cdot \text{Verdünnungsfaktor (20)} \\ = (\text{mM Glucose} \cdot 10^{-3} / \text{ml Rohhomogenat}) \cdot 0,5$$

Proteinbestimmung

Der Proteingehalt des Rohnomogenats wurde nach einer von

Lowry (1951) angegebenen Methode bestimmt.

Reagenzien:

Folin-Ciocalteus-Reagenz (Merck)

Lösung A: 2% NaCO_3 in 0,1N NaOH

Lösung B: 2% Natriumtartratahydrat in A.dest.

Lösung C: 1% $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in A.dest.

Ausführung:

1. Mischen der Lösungen A B C im Verhältnis 1:1:98
(Lowry-Reagenz)
2. Ansatz von 2,5ml Lowry-Reagenz und 0,02ml Homogenat
im Reagenzglas, 20Min. Stehenlassen bei Zimmertemperatur. Hinzufügen von 0,2ml Folin-Ciocalteus-Reagenz.
Nach 30Min. bei Zimmertemperatur Messen der Extinktion
im Eppendorf-Photometer bei 578nm gegen einen Leerwert
mit 0,2ml A.dest., 2,5ml Lowry-Reagenz und 0,2ml Folin-
Ciocalteus-Reagenz.

Berechnung:

Durch Ermittlung einer Eichkurve (Extinktion-Protein-
gehalt), die mit Rinderalbumin erstellt wurde, ist der
Eichfaktor durch die Steigung gegeben.

$$\begin{aligned} &\text{Extinktion} \cdot \text{Eichfaktor}(25) \cdot \text{Verdünnungsfaktor}(50) \\ &= \text{mg Protein/ml Rohhomogenat} \end{aligned}$$

Berechnung der spezifischen Disaccharidasenaktivität

Der berechnete Wert der freigesetzten Glucose pro min und ml

Rohhomogenat wird durch Dividieren des aus der Proteinbestimmung erhaltenen Wertes (mg Protein/ml Rohhomogenat) auf 1mg Protein bezogen. Daraus ergibt sich die Einheit der spezifischen Disaccharidasenaktivität: $\frac{\text{mM} \cdot 10^{-3}}{\text{mg Prot.} \cdot \text{min}}$
Auf Grund der Definition der Unit als Einheit der Disaccharidasenaktivität nach Dahlquist (1963)

$$U = \text{mM} \cdot 10^{-3} / \text{min} ,$$

ergibt sich als Einheit der spezifischen Disaccharidasenaktivität: U/g Protein

$$\text{Enzymaktivität/g Protein} = \frac{\text{freigesetzte Glucose pro ml Rohhom.}}{\text{Inkubationszeit Proteingehalt pro ml Rohhom.}}$$

2. Bestimmung der Dipeptidasenaktivität im Rohhomogenat der Rattenmucosa

Modifiziert nach einer von Auricchio (1970) angegebenen Methode mit L-Aminosäureoxydase.

Prinzip:

Spaltung der angebotenen Dipeptide in Aminosäuren durch die im Homogenat vorhandene Dipeptidase. Oxydative Desaminierung durch L-Aminosäureoxydase. Übertragung der entstandenen H-Atome über die Peroxydase auf o-Dianisidin. Quantitative Bestimmung der dabei auftretenden Verfärbung des o-Dianisidins im Photometer bei 436nm. — Zur Erfassung der Dipeptidasen wurden nur die Dipeptide als Substrat verwandt, von denen nur eine der beiden abgespalte-

nen Aminosäuren eine Reaktion mit der Aminosäureoxydase ergibt.

Reagenzien:

L-Methionyl-Glycin (Sigma)

Glycyl-L-Leucin (Sigma)

L-Phenylalanyl-Glycin (Sigma)

L-Phenylalanyl-L-Prolin (Sigma)

L-Aminooxydase (Sigma)

Peroxydase (Sigma)

o-Dianisidin (Merck)

Triton-x-100 (Serva)

- 0,2M Phosphat-Citrat-Puffer pH 8,5

80% o-Phosphorsäure in 100ml A.dest. lösen

Citronensäure(krist.) in 100ml A.dest. lösen

543ml 1N NaOH

Mischen dieser drei Ansätze und Einstellen des

pH mit 0,1N HCl. Auffüllen mit A.dest. auf 1000ml.

- 0,1M K-Phosphat- Puffer pH 7,4

- 0,01M Na-Phosphat-Puffer pH 7,4

- Peroxydase-Triton-x-100-Puffergemisch pH 7,4

0,04g Peroxydase

2ml Triton-x-100 gelöst in 3ml Äthanol

1000ml 0,01M Na-Phosphat-Puffer pH 7,4

- o-Dianisidinlösung

1g/100ml 90%iges Äthanol

Jeweils vor Gebrauch werden angesetzt:

0,5ml o-Dianisidinlösung

100ml Peroxydase-Triton-x-100-Puffergemisch

Ausführung:

L-Methionyl-Glycin-Dipeptidase

1. a) Homogenat 10mg/ml 0,9% NaCl wurden in einem Glaspotter bei 4°C homogenisiert.
b) Substratlösung: 10mM L-Methionyl-Glycin in A.dest.
c) Puffer: 0,02M Citrat-Phosphat-Borat pH 8,5
2. Als Inkubationsansatz wurden in ein Reagenzglas gegeben:
0,1ml 0,02M Citrat-Phosphat-Borat-Puffer pH 8,5
0,05ml Substratlösung
Nach Anwärmen im Wasserbad (37°C), Zugabe von 0,1ml Homogenat. Vom Zeitpunkt des Umingebens des Homogenats Inkubieren über 5Min. bei 37°C.
3. Unterbrechung der Reaktion mit 0,02ml 60%iger Perchlorsäure. Neutralisieren mit 0,02ml 11M NaOH.
4. Bestimmen der Enzymaktivität
 - a) Zugabe von 2ml 0,1M K-Phosphat-Puffer pH 7,4
 - b) Zentrifugieren: 5Min. bei 4000 U/min. Von der oberen Phase wurden 1ml entnommen, dazugegeben wurden 0,5ml o-Dianisidin-Peroxydase-Triton-x-100-Pufferlösung und 0,02ml L-Aminooxydaselösung (5mg/ml Na-Phosphat-puffer).
 - c) Inkubieren: 30Min. bei 37°C.
 - d) Messen der Extinktion im Eppendorf-Photometer bei 436nm in 1cm Glasküvetten gegen einen Leerwert mit:
0,1ml A.dest.
0,1ml Citrat-Phosphat-Borat-Puffer
0,05ml Substrat
2,0ml K-Phosphat-Puffer

Davon wurden ca. 1,5ml entnommen und 0,5ml o-Dianisidin-Peroxydase-Triton-x-100-Puffer-Lösung und 0,02ml L-Amino-oxydase-Lösung dazugegeben.

Berechnung:

Extinktion $\cdot$ Eichfaktor $\cdot$ Verdünnungsfaktor(22,5)
= mM $\cdot 10^{-3}$ umgesetztes Substrat/ml Rohhomogenat in 5Min.

Weitere Berechnung der spezifischen Aktivität s. unter Bestimmung der Disaccharidasenaktivität.

Der Eichfaktor für L-Methionyl wurde berechnet, indem man mittels einer Verdünnungsreihe die entsprechenden Extinktionen ermittelte und eine Eichkurve erstellte, deren Steigung der gesuchte Faktor war.

Ebenso wurde der Eichfaktor für die folgenden bestimmten Dipeptidasen ermittelt.

Glycyl-L-Leucin-Dipeptidase

1. a) Homogenat: 5mg/ml 0,9% NaCl
- b) Substrat: 80mM Glycyl-L-Leucin in A.dest.
- c) 0,2M Citrat-Phosphat-Borat-Puffer pH 8,5

Weitere Verarbeitung und Berechnung sowie Ermittlung des Eichfaktors s.o.!

L-Phenylalanyl-Glycin-Dipeptidase

1. a) Homogenat: 10mg/ml NaCl 0,9%
- b) Substrat: 40mM L-Phenylalanyl-Glycin in A.dest.
- c) 0,2M Citrat-Phosphat-Borat-Puffer pH 8,5

Weitere Verarbeitung, Berechnung und Ermittlung des Eichfaktors s.o.!

L-phenylalanyl-L-Prolin-Dipeptidase

1. a) Homogenat: 5mg/ml 0,9% NaCl

b) Substrat: 80mM L-Phenylalanyl-L-Prolin in A.dest.

c) 0,2M Citrat-Phosphat-Borat-Puffer pH 8,5

Weitere Verarbeitung, Berechnung und Ermittlung des Eichfaktors s.o.!

IV. Statistische Analysen

Die Meßwerte wurden statistisch vergleichenden Untersuchungen zur Ermittlung signifikanter Unterschiede unterzogen.

Zur Anwendung gelangten:

- t-Test nach Student

- parameterfreier Rangtest nach Wilcoxon

(Documenta Geigy, wissenschaftliche Tabellen)

Bei p bzw. $2\alpha \leq 0,05$ wurden die Unterschiede als signifikant angesehen.

Die Berechnung der erhaltenen Daten erfolgte mit dem Tischcomputer (Fa. Olivetti, Frankfurt/M.).

ER G E B N I S S E

A. Körpergewicht der alloxandiabetischen Tiere

Nach Alloxanintoxikation nimmt das Körpergewicht der Ratten ab, Tab.1, ohne daß eine Signifikanz zu den Ausgangswerten festzustellen ist.

Nr. des Tieres		Körpergewicht (g)	
		bei Versuchs- beginn	20 Tage nach Alloxangabe
<u>Gruppe 1</u>	1	254,7	209,3
	2	213,3	193,0
	3	233,9	207,1
	4	234,2	239,3
	5	173,4	185,7
	6	224,2	218,2
	7	265,5	234,6
	8	238,0	238,5
	9	260,1	235,3
	10	294,5	226,0
	11	201,2	198,3
	12	196,6	168,7
	13	213,2	209,1
Mittelwert		231,0	212,54
St.- Abweichung		32,59	22,14
St.-Abw.d.			
Mittelwertes		9,04	6,14
Signifikanz			$p > 0,05$

Nr. des Tieres	Körpergewicht (g)	
	bei Versuchsbeginn	20 Tage nach Alloxangabe
Gruppe 2	1	224,3
	2	211,4
	3	216,7
	4	211,7
	5	217,5
	6	210,1
	7	188,5
	8	198,1
	9	203,8
Mittelwert		209,12
St.-Abweichung		10,87
St.-Abw.d. Mittelwertes		3,62
Signifikanz		p > 0,05

Tab.1 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte des Körpergewichtes diabetischer Ratten bei Versuchsbeginn und 20 Tage nach Alloxanintoxikation (Gruppe 1 und 2). Statistischer Vergleich der Meßwerte von Gruppe 1 und 2 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

B. Futtermenge

Nach Alloxanintoxikation tritt eine deutliche Verminderung der täglich aufgenommenen Futtermenge in den ersten 6 Tagen ein (Lorenz-Meyer et al.). Danach kommt es zu einer Hyperphagie.

Tab.2

Nr. des Tieres	Futtermenge (g)	
	1.-6. Tag nach All.	1.-20. Tag nach All.
Gruppe 1		
1	1,83	13,84
2	6,78	19,50
3	10,00	23,67
4	20,44	21,10
5	14,04	23,69
6	10,70	16,77
7	2,88	15,74
8	8,09	24,41
9	12,30	22,57
10	16,50	15,82
11	0,10	24,22
12	0,71	25,36
13	10,05	25,35
Mittelwert	8,80	20,92
St.-Abweichung	6,26	4,1
St.-Abw.d. Mittelwertes	1,73	1,13
Signifikanz	$p < 0,001$	
Gruppe 2		
1	13,82	19,05
2	14,64	20,20
3	11,41	20,80
4	5,08	23,91
5	5,40	23,98
6	8,08	24,09
7	13,49	24,78
8	9,08	24,69
9	12,83	21,34
Mittelwert	10,40	22,53

St.-Abweichung	3,62	2,18
St.-Abw.d. Mittelwertes	1,20	0,72
Signifikanz	$p < 0,005$	

Tab. 3 Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte der Futtermenge diabetischer Ratten 1-6 Tage und 1-20 Tage nach Alloxanintoxikation.

Statistischer Vergleich der Futtermenge von 6 Tagen mit der von 20 Tagen nach Alloxangabe (Student-Test) und Angabe der Probabilität (p).

C. Blutzucker

Nr. des Tieres	B l u t z u c k e r (mg%)	
	Gruppe 1	Gruppe 2
1	485	460
2	395	295
3	505	425
4	406	364
5	390	412
6	500	323
7	535	656
8	543	290
9	527	445
10	440	
11	485	
12	740	
13	500	
Mittelwert	496,23	407,77

St.-Abweichung	90,02	112,76
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	24,96	37,58
Signifikanz	p > 0,05	

Tab.3 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Blutzuckerwerte bei diabetischen Ratten 20 Tage nach Alloxanintoxikation (Gruppe 1 und 2).Angabe der Werte in mg%.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 und 2 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Eine Korrelation zwischen Körpergewicht und Bluzucker besteht nicht. ($2\alpha > 0,05$)

D. Rückdiffusion von Glucose ins Darmlumen bei extrem hohem Blutzuckerspiegel

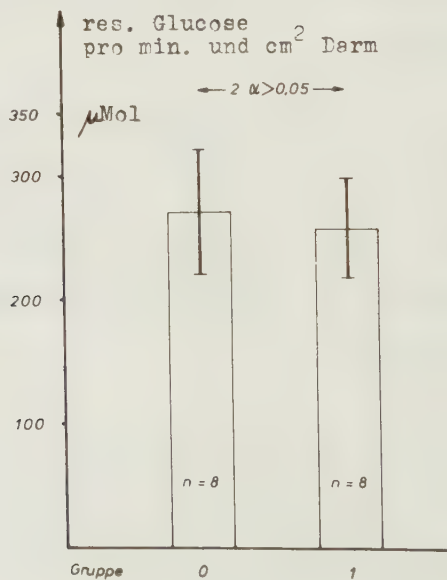
Bei den Tieren 1-5 der Gruppe 1 wurde dem Perfusat (Ringer-Lösung, Phenolrot) Phlorizin ($5 \times 10^{-4} M$) – ein potenter Hemmer der Glucose-Rückresorption- zugesetzt. Es war nur ein sehr geringer Anstieg ins Lumen ausgetretener Glucose zu erfassen. (Die Meßwerte lagen in der Größenordnung von $3-8 \mu M \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$.)

E. Resorbierte Glucose

Die diabetischen Tiere (Nr.6-13) der Gruppe 1 zeigen im Vergleich zu den Kontrolltieren (Gruppe 0) eine leicht verminderte Resorptionsleistung, Tab.4, die sich allerdings statistisch nicht sichern läßt.

Nr. des Tieres	Glucoseresorption ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^2^{-1}$)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	191,7	211,2
2	231,9	252,3
3	326,2	148,3
4	398,4	283,4
5	403,5	408,7
6	357,1	205,1
7	246,6	263,7
8	114,2	280,8
9	160,7	
Mittelwert	270,03	256,68
Standardabweichung	105,71	76,48
St.-Abw.d. Mittelwertes	35,23	27,04
Signifikanz	p 0,05	

Tab.4, Abb.1



Tab.4 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der resorbierten Glucose bei diabetischen Ratten nach 20 Tagen Alloxanintoxikation (Gruppe1) und den Kontrolltieren (Gruppe0). Statistischer Vergleich der Gruppe 1 und Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Abb.1 Resorbierte Glucose pro min und cm² Darmfläche der Kontrollgruppe 0 und der alloxandiabetischen Gruppe 1 (20 Tage nach Alloxangabe). Schranken = S.E.M.

In den Korrelationen zwischen resorbierter Glucose und Blutzucker, Futtermenge, H₂O-Resorption sowie dem Körpergewicht der diabetischen Tiere läßt sich keine signifikante Beziehung feststellen. Ein Trend zu einer negativen Korrelation zwischen den angegebenen Parametern ist erkennbar.

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient (r)	$\tan \alpha$	2α
Blutzucker					
--res. Glucose	1	8	-0,2243	-0,5185	>0,05
Futtermenge					
--res. Glucose	1	8	-0,3998	-43,648	>0,05
H ₂ O-Resorption					
--res. Glucose	1	8	0,3188	64,580	>0,05
Gewicht der Tiere					
--res. Glucose	1	8	-0,1862	-0,0539	>0,05

Tab.5 Korrelationen

F. Resorbiertes Methionin

Gegenüber den Kontrolltieren ist die Methionin-Resorption bei den diabetischen Ratten vermindert. Dies läßt sich statistisch jedoch nicht sichern.

Nr. des Tieres	Methioninresorption ($\text{mM} \cdot 10^{-3} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^2^{-1}$)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	544,9	230,7
2	517,8	244,4
3	134,8	184,6
4	126,5	178,0
5	192,6	193,9
6	90,2	148,8
7	143,2	199,9
8	232,2	210,0
Mittelwert	247,77	198,78
St.-Abweichung	180,36	30,19
St.-Abw.d. Mittelwertes	63,76	10,67
Signifikanz	$p > 0,05$	

Tab.6 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte des resorbierten Methionins bei diabetischen Ratten (20 Tage Alloxanintoxikation) Gruppe 1 und den Kontrolltieren Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

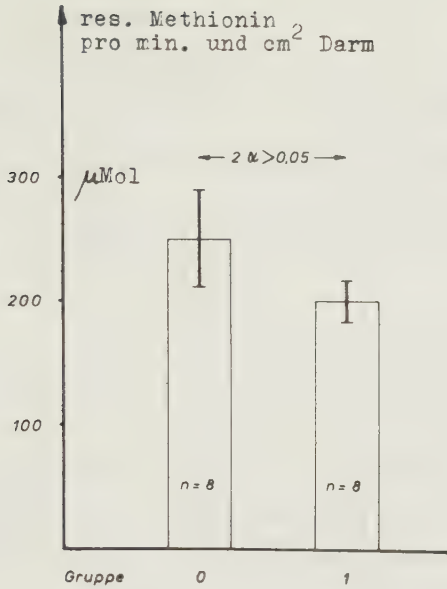


Abb.2 Resorbiertes Methionin pro min. und cm² Darmfläche der Kontrollgruppe 0 und der diabetischen Gruppe 1 (20 Tage nach Alloxangabe). Schranken = S.E.M.

In den Korrelationen zwischen res.Methionin und Blutzucker, der H₂O-Resorption, dem Körpergewicht der Tiere, der Futtermenge sowie der res.Glucose ist keine signifikante Beziehung erkennbar.

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient(r)	tan α	2 α
Blutzucker					
--res.Methionin	1	8	0,0916	28,696	>0,05
H ₂ O-Resorption					
--res.Methionin	1	8	0,281	31,857	>0,05

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient(r)	$\tan \alpha$	2α
Gewicht der Tiere					
--res. Methionin	1	8	-0,2945	-0,3346	>0,05
Futtermenge					
--res. Methionin	1	8	-0,5779	-11,7902	>0,05
res. Glucose					
--res. Methionin	1	8	0,0893	23,9696	>0,05

Tab.7 Korrelationen:

Blutzucker	-	res. Methionin
H ₂ O-Resorption	-	res. Methionin
Gewicht der Tiere (bei Perfusion)	-	res. Methionin
Futtermenge	-	res. Methionin
res. Glucose	-	res. Methionin

G. Morphologie I

Ergebnisse mit dem biokkularen Lichtmikroskop (Fa. Leitz, Wetzlar)

Die Zottenhöhe der Dünndarmschleimhaut ist bei den alloxan-diabetischen Ratten mit 20 Tage manifestierten Diabetes mellitus gegenüber den Kontrolltieren signifikant erhöht ($p < 0,001$).

Tab. 8, Abb. 3

Nr. des Tieres	Z o t t e n h ö h e (mm·10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	322,0	624,4
2	473,2	669,2
3	447,3	1009,4
4	393,4	779,8
5	446,2	662,2
6	401,8	960,4
7	471,8	903,0
8	427,0	708,4
9	456,4	612,6
10	487,2	729,4
11	557,2	764,4
12	557,2	910,0
13	505,4	879,2
14	639,8	
15	399,0	
16	452,2	
17	403,2	
18	550,2	
Mittelwert	466,13	785,56
St.-Abweichung	75,58	133,21
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	17,81	36,94
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.8 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenhöhe der Lünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

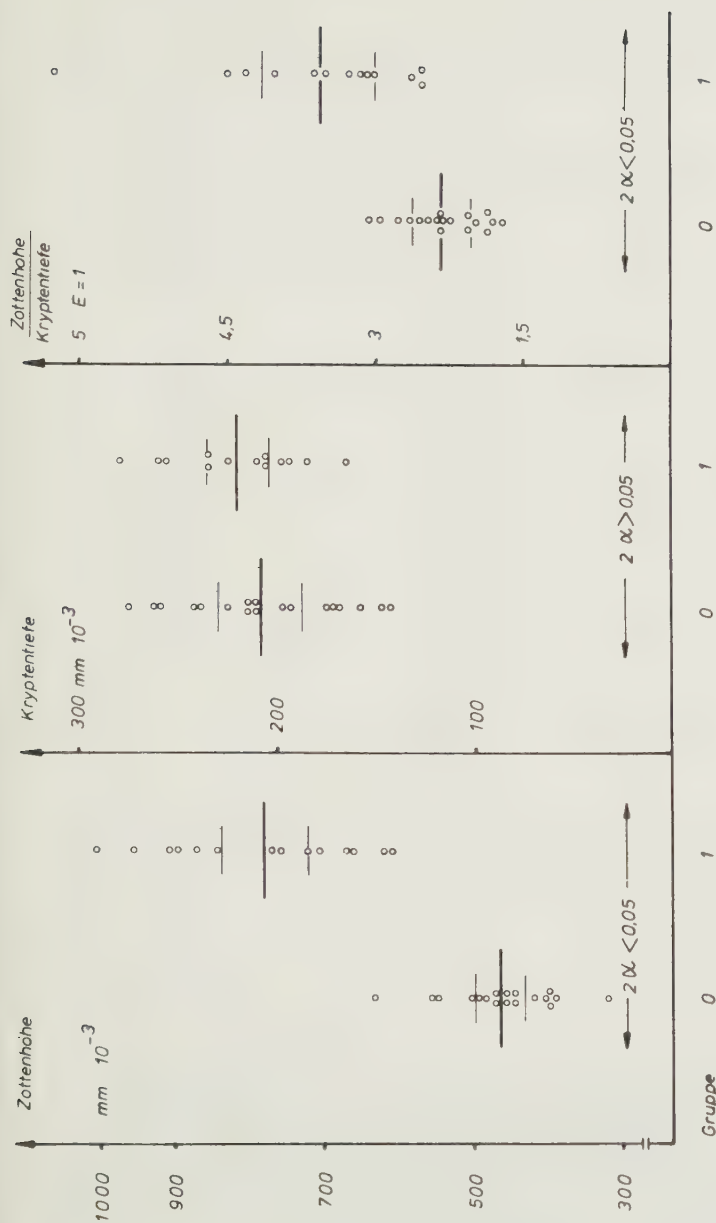


Abb. 3 Zottenhöhe, Kryptentiefe und Quotient aus Zottenhöhe und Kryptentiefe bei diabetischen Ratten Gruppe 1 und den Kontrolltieren Gruppe 0.

Die Kryptentiefe weist nur einen gerinfügigen, nicht signifikanten ($p > 0,05$) Unterschied aus. Tab.9, Abb.3

Nr. des Tieres	K r y p t e n t i e f e (mm·10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	172,2	193,2
2	263,2	263,2
3	264,6	225,8
4	211,4	280,1
5	198,8	166,2
6	194,6	205,8
7	158,2	194,6
8	217,0	235,2
9	170,8	257,6
10	210,0	187,6
11	217,0	212,8
12	225,4	205,8
13	242,9	229,6
14	274,4	
15	148,4	
16	147,0	
17	172,2	
18	238,0	
Mittelwert	207,00	219,80
St.-Abweichung	40,00	32,92
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	9,4	9,13
Signifikanz	$p > 0,05$	

Tab.9 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Kryptentiefe der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Die signifikante Zunahme der Zottenhöhe in Relation zur Kryptentiefe veranschaulicht am deutlichsten der Quotient der beiden Parameter. Tab.10

Nr. des Tieres	Z o t t e n h ö h e	
	K r y p t e n t i e f e	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	1,86	3,17
2	1,79	2,77
3	1,69	2,77
4	1,86	2,83
5	2,24	5,27
6	2,06	3,09
7	2,98	3,43
8	1,96	4,26
9	2,67	3,02
10	2,32	3,52
11	2,56	4,51
12	2,47	4,38
13	2,08	3,08
14	2,33	
15	2,68	
16	3,07	
17	2,34	
18	2,31	
Mittelwert	2,29	3,54
St.-Abweichung	0,39	0,80
St.-Abw.d. Mittelwertes	0,09	0,22
Signifikanz	p < 0,001	

Tab.10 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte des quotienten aus Zottenhöhe und Kryptentiefe der Dünndarm-schleimhaut ddabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontroll-tiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Die Epithelzellhöhe diabetischer Ratten zeigt gegenüber den Kontrolltieren eine signifikante Zunahme ($p < 0,01$). Tab. 11, Abb. 4

Nr. des Tieres	Epithelzellhöhe (mm. 10^{-3})	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	33,48	38,03
2	31,00	40,96
3	31,93	36,83
4	33,79	31,93
5	31,31	42,80
6	30,69	39,68
7	34,41	44,64
8	32,24	51,56
9	28,21	36,89
10	26,89	36,27
11	38,13	35,93
12	31,31	48,98
13	31,00	40,30
14	35,65	
15	32,55	
16	33,79	
17	32,55	
18	35,96	
Mittelwert	33,04	40,16
St.-Abweichung	2,48	5,47
St.-Abw.d. Mittelwertes	0,58	1,51
Signifikanz	$p < 0,01$	

Tab. 11 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Epithelzellhöhe der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Die Zottenbreite diabetischer Ratten ist gegenüber der der Kontrolltiere signifikant vergrößert ($p < 0,01$). Tab.12, Abb.4

Nr. des Tieres	Z o t t e n b r e i t e (mm·10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	127,4	138,6
2	120,4	124,6
3	105,0	140,0
4	103,6	107,9
5	130,2	123,2
6	104,3	156,8
7	101,5	124,6
8	114,8	137,2
9	135,8	138,6
10	113,4	107,8
11	130,2	145,6
12	110,6	145,7
13	105,0	134,4
14	118,3	
15	133,7	
16	106,4	
17	113,4	
Mittelwert	116,11	132,68
St.-Abweichung	11,57	14,48
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	2,80	4,01
Signifikanz	$p < 0,01$	

Tab.12 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenbreite der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten der Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

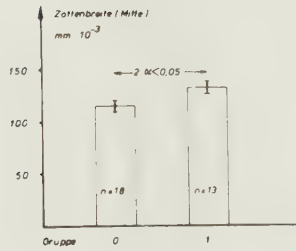
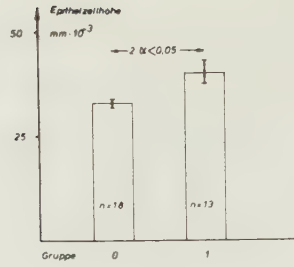


Abb.4 Epithelzellhöhe und Zottenbreite der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken="E.E."

Bei den diabetischen Ratten der Gruppe 1 ist eine signifikante Korrelation zwischen Zottenhöhe und Futtermenge zu finden. Abb.5

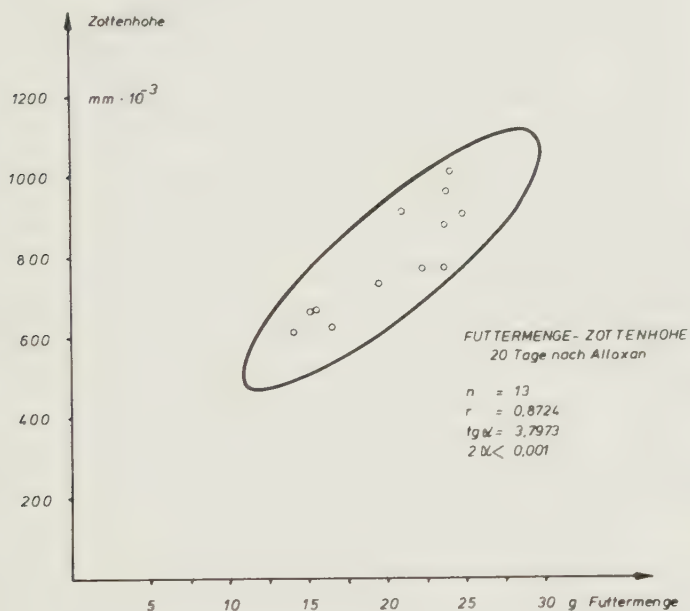


Abb.5 Korrelation zwischen Futtermenge und Zottenhöhe der Gruppe 1 20 Tage nach Alloxanintoxikation.

Eine signifikant negative Beziehung besteht zwischen res. Methionin und der Zottenhöhe diabetischer Ratten in der Gruppe 1 bei den Tieren Nr.6-13. Abb.6

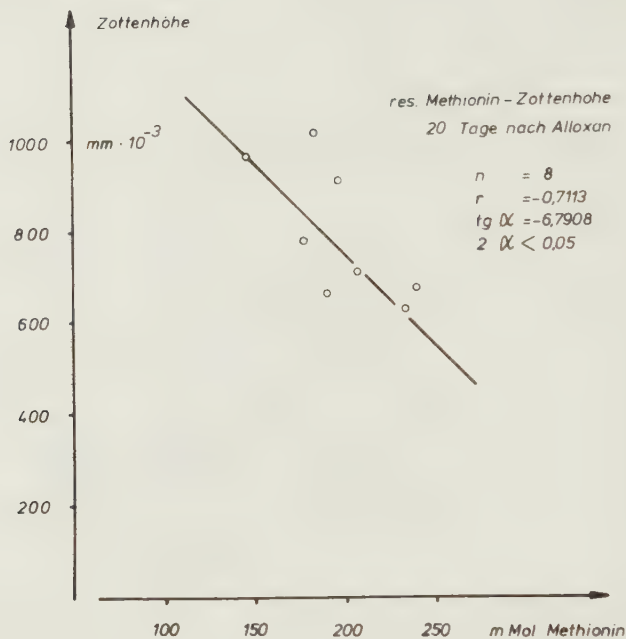


Abb.6 Korrelation zwischen res. Methionin und Zottenhöhe der Gruppe 1 (Tiere Nr.6-13) 20 Tage nach Alloxanintoxikation.

Eine negative Tendenz ist auch in der Korrelation zwischen res. Glucose und Zottenhöhe bei den gleichen Tieren festzustellen. Tab.13

Korrelation	Gruppe	n	Korrelationskoeffizient(r)	$\tan \alpha$	2α
Zottenhöhe					
--res. Glucose	1	8	-0,569	-2,863	>0,05

Tab.13 Korrelation zwischen Zottenhöhe und res. Glucose Gruppe1(Tiere Nr. 6-13)

H. Morphologie II

Ergebnisse mit dem Stereo-Zoom-Mikroskop (Fa. Bausch & Lomb, Ffm.)

Die Zottenhöhe der Dünndarmschleimhaut alloxandiabetischer Ratten Gruppe 1 ist gegenüber den Kontrolltieren Gruppe 0 deutlich signifikant erhöht ($p < 0,001$). Tab.14, Abb.7

(Die Bezeichnung Gruppe 1 und Gruppe 0 in diesem Abschnitt der Ergebnisse ist nur insoweit identisch mit den Gruppen des Abschnitts Morphologie I, als sie den Gegensatz diabetische - und Kontrolltiere darstellt. Als Untersuchungsgut dienten die auf S.28-30 mit Gruppe 2 bezeichneten Tiere als alloxandiabetische Gruppe und als Kontrolltiere ein neues Kollektiv.) -Untersuchungsmethode nach Clarke s.v.S.14-16—

Nr. des Tieres	Z o t t e n h ö h e (mm.10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	437,5	592,5
2	356,2	555,0
3	440,0	562,5
4	467,5	650,0
5	356,9	691,2
6	361,1	717,5
7	390,0	671,2
8	486,2	683,7
9	482,5	610,7
Mittelwert	419,76	629,37
St.-Abweichung	54,39	58,59
St.-Abw.d. Mittelwertes	18,13	19,53
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.14 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenhöhe der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).



Abb.7 Zottenhöhe, Kryptentiefe und Quotient aus Zottenhöhe und Kryptentiefe bei diabetischen Ratten Gruppe 1 und den Kontrolltieren Gruppe 0. (Untersuchungsmethode nach CLARKE)

Die Kryptentiefe läßt keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen erkennen. Tab.15, Abb.7

Nr. des Tieres	K r y p t e n t i e f e (mm.10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	142,0	142,5
2	150,0	157,3
3	156,2	161,2
4	151,0	156,0
5	137,5	148,7
6	141,2	151,2
7	146,2	147,5
8	145,0	153,7
9	142,5	137,5
Mittelwert	145,73	150,62
St.-Abweichung	5,79	7,47
St.-Abw.d. Mittelwertes	1,93	2,49
Signifikanz	p > 0,05	

Tab. 15 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Kryptentiefe der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Der Quotient aus Zottenhöhe und Kryptentiefe weist deutlich die signifikante Zunahme der Zottenhöhe im Verhältnis zur Kryptentiefe diabetischer Ratten aus ($p < 0,001$). Tab.16, Abb.7

Nr. des Tieres	Z o t t e n h ö h e (mm·10 ⁻³)	
	K r y p t e n t i e f e Gruppe 0	Gruppe 1
1	3,08	4,15
2	2,37	3,52
3	2,81	3,49
4	3,09	4,16
5	2,59	4,64
6	2,55	4,74
7	2,66	4,07
8	3,35	4,44
9	3,38	4,45
Mittelwert	2,875	4,184
St.-Abweichung	0,368	0,450
St.-Abw.d. Mittelwertes	0,122	0,150
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.16 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte des Quotienten aus Zottenhöhe und Kryptentiefe der Dünndarm-schleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Zwischen Futtermenge und Zottenhöhe besteht bei den Ratten mit 20 Tage bestehendem Diabetes mellitus eine signifikante Korrelation ($r=0,7325$, $2\alpha < 0,01$). Abb.8

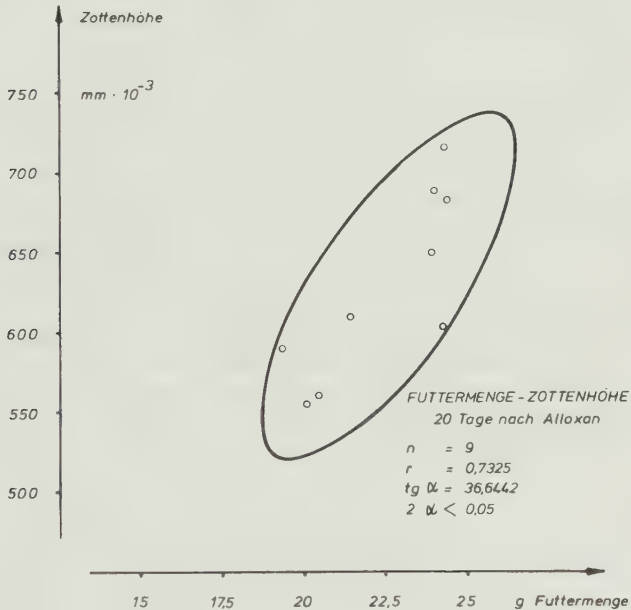


Abb.8 Korrelation zwischen Futtermenge und Zottenhöhe der Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe.

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient(r)	$\tan \alpha$	2α
Zottenhöhe --Blutzucker	1	9	0,319	-0,217	>0,05

Tab.17 Korrelation - Zottenhöhe-Blutzucker

Der Durchmesser des Darmsegments diabetischer Ratten ist signifikant größer als der der Kontrolltiere ($p < 0,001$)
Tab.18, Abb.9 (Mittelwert von 10 Einzelmessungen)

Nr. des Tieres	Durchmesser des Darmsegments (mm · 10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	3800	6000
2	4900	5950
3	5500	6450
4	5000	5300
5	5100	5400
6	5250	6075
7	5200	6250
8	4950	6050
9	5050	6350
Mittelwert	4972	5980
St.-Abweichung	475	394
St.-Abw.d. Mittelwertes	158	131
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.18 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte des Durchmessers des Darmsegments diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

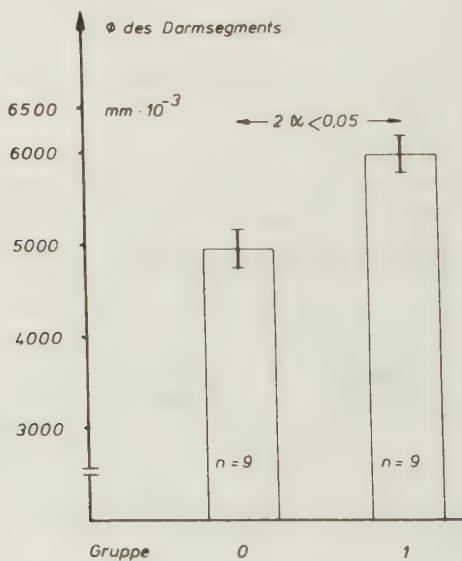


Abb.9 Durchmesser des Darmsegments diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

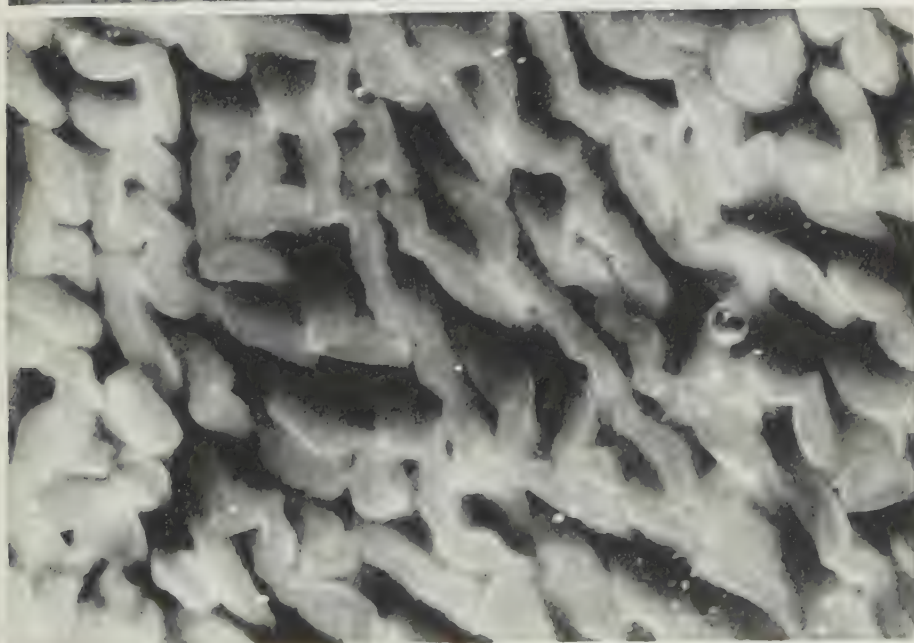
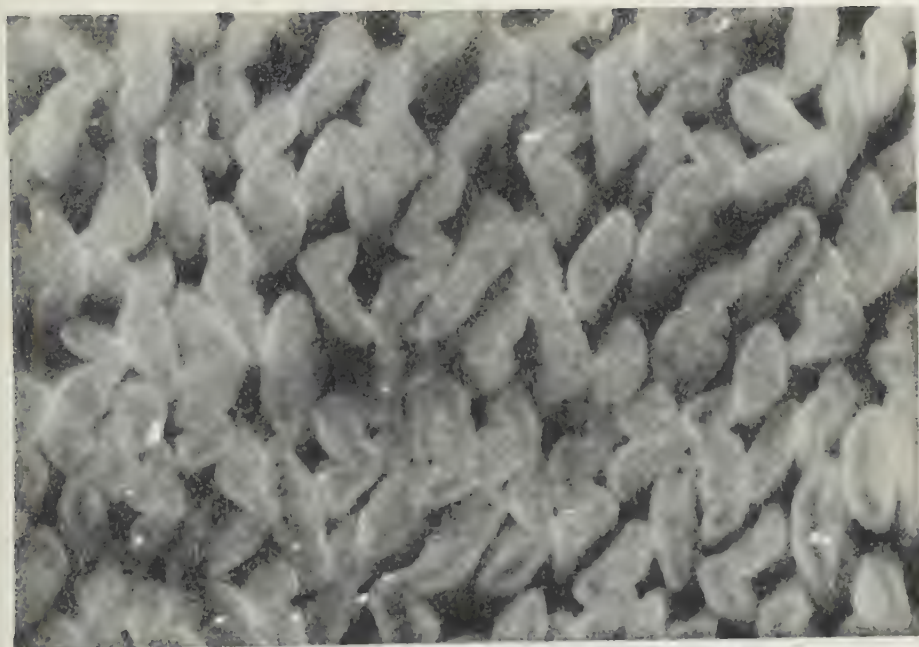


Abb. 11 Dünndarmzotten - Foto $\approx 8,5\text{mm}^2$ Darm
(Aufnahme mit Kleinbild-Kamera 20x vergrößert) Bild oben: Zotten eines Kontrolltiers
Bild unten: Zotten einer diabetischen Ratte

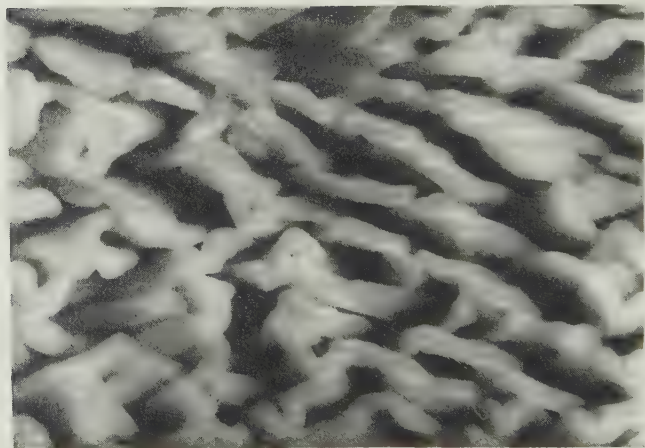
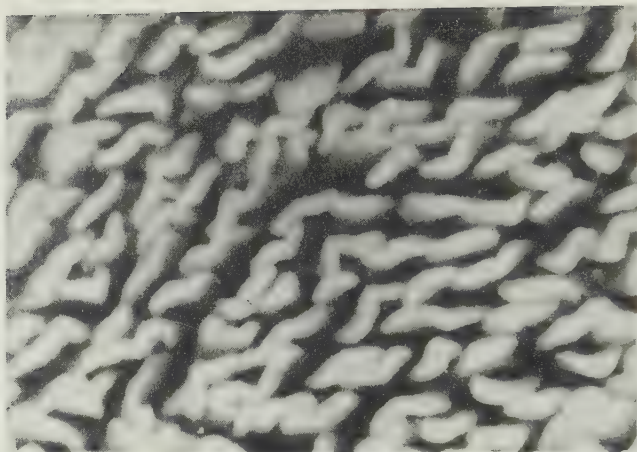


Abb.11 Dünndarmzotten - Foto = $8,5\text{mm}^2$ Darm
(Aufnahme mit Kleinbild-Kamera - 20x vergrößert)
Bild oben: Zotten eines Kontrolltiers
Bild unten: Zotten einer diabetischen Ratte

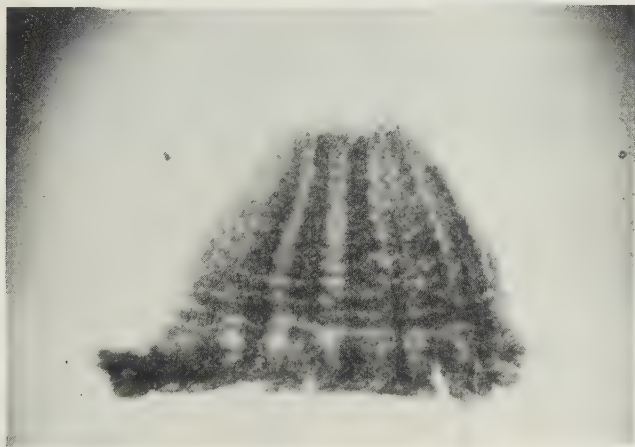


Abb.11a Dünndarmzotte - 50x vergrößert

Bild oben: Zotte einer gesunden Ratte

Bild unten: Zotte einer diabetischen Ratte

(Aufnahme mit dem Photographierzusatz des Orthoplan-
Leitz-Mikroskops der Fa. Leitz, Wetzlar)

Anzahl der Zotten umgerechnet auf 1cm^2 Darmfläche.

Tab.20, Abb.12

Nr. des Tieres	Anzahl der Zotten pro cm^2 Darm	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	1105	600
2	1200	729
3	1376	729
4	976	694
5	941	611
6	952	588
7	1047	635
8	1188	588
9	1035	576
Mittelwert	1091	639
St.-Abweichung	142	61
St.-Abw.d. Mittelwertes	47	20
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.20 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Anzahl der Zotten pro cm^2 Darm diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilites (p).

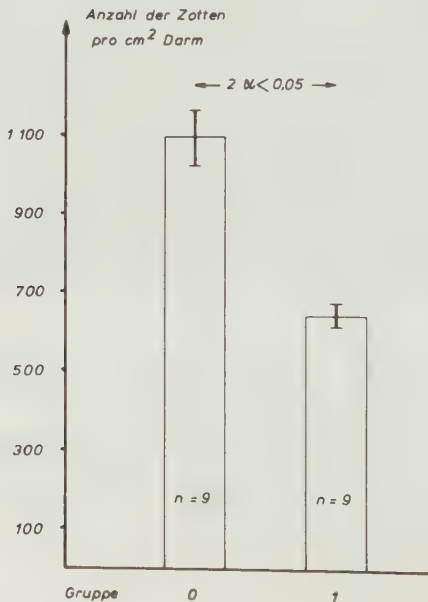


Abb.12 Anzahl der Zotten pro cm^2 Darm diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

Die Basis der Zotten diabetischer Ratten ist gegenüber der Zottenbasis der Kontrolltiere signifikant vergrößert. ($p < 0,01$) Tab.21, Abb.13 (Meßwerte geben den Durchschnitt von 10 Einzelmessungen an 10 individuellen Zotten wieder.)

Nr. des Tieres	Z o t t e n b a s i s ($\text{mm} \cdot 10^{-3}$)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	715,0	892,5
2	643,7	801,2
3	406,2	730,7
4	596,2	762,3
5	784,7	861,2
6	659,7	837,5
7	631,2	830,0
8	663,7	831,2
9	646,2	810,3
Mittelwert	638,5	817,4
St.-Abweichung	102,5	48,9
St.-Abw.d. Mittelwertes	34,1	16,3
Signifikanz	$p < 0,01$	

Tab.21 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenbasis diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

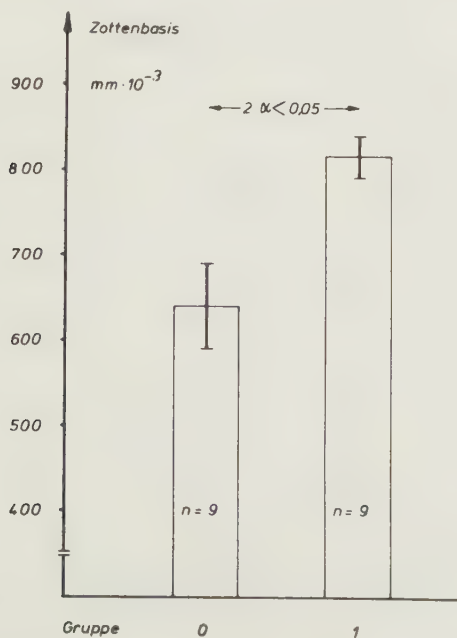


Abb.13 Zottenbasis diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken = S.E.M.

Die Zottenbreite diabetischer Ratten weist gegenüber den Kontrolltieren keinen signifikanten Unterschied auf.
(Die Meßwerte repräsentieren den Durchschnitt von jeweils 10 Einzelmessungen bei Betrachtung der Zottenebene in der Aufsicht.) Tab.22, Abb.14

Nr. des Tieres	Z o t t e n b r e i t e ($\text{mm} \cdot 10^{-3}$)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	100,0	118,7
2	98,0	108,5
3	99,0	116,2
4	102,0	102,2
5	102,5	101,3
6	107,5	103,7
7	118,7	104,0
8	112,5	112,5
9	101,0	104,8
Mittelwert	104,5	107,9
St.-Abweichung	6,9	6,3
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	2,3	2,1
Signifikanz	$p > 0,05$	

Tab.22 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenbreite diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

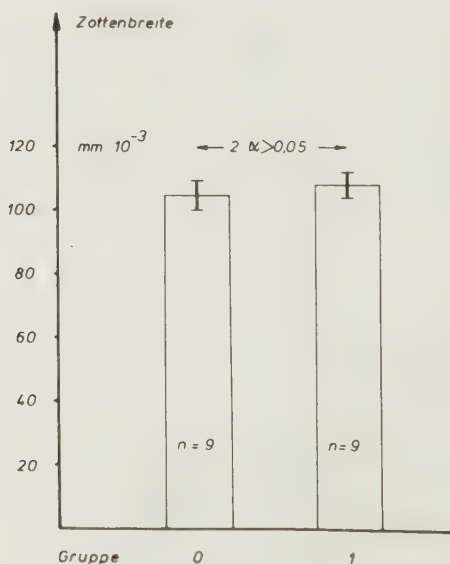


Abb.14 Zottenbreite diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken = S.E.M.

Die Zottenspitze diabetischer Ratten ist nicht signifikant gegenüber den Kontrolltieren verändert. (Meßwerte geben den Durchschnitt von 10 Einzelmessungen an 10 individuellen Zotten wieder.) Tab.23, Abb.15

Nr. des Tieres	Z o t t e n s p i t z e (mm·10 ⁻³)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	496,2	575,0
2	325,0	557,5
3	333,7	487,5
4	406,2	452,3
5	563,7	540,0
6	456,9	491,2
7	430,0	318,7
8	431,2	518,7
9	430,0	558,7
Mittelwert	430,3	499,9
St.-Abweichung	74,0	78,8
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	24,6	26,2
Signifikanz	p > 0,05	

Tab.23 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Zottenspitze diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

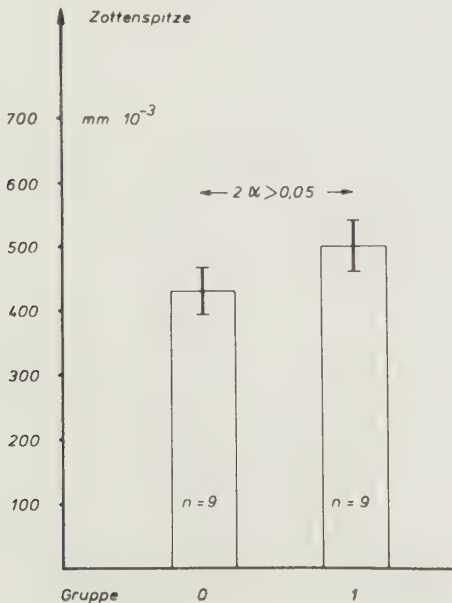


Abb.15 Zottenspitze diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

Die resorbierende Oberfläche pro Zotte ist bei den alloxan-diabetischen Ratten gegenüber den Kontrolltieren deutlich signifikant vergrößert ($p < 0,001$). (Berechnung s.S.15-16)
Tab.24, Abb.16 (Meßwerte repräsentieren den Durchschnitt von 10 Einzelmessungen an 10 individuellen Zotten)

Nr. des Tieres	resorbierende Oberfläche pro Zotte (mm ²)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	0,542	1,022
2	0,448	0,873
3	0,405	0,804
4	0,563	0,824
5	0,462	1,078
6	0,488	1,086
7	0,502	0,804
8	0,635	0,981
9	0,614	0,954
Mittelwert	0,518	0,936
St.-Abweichung	0,076	0,114
St.-Abw.d. Mittelwertes	0,025	0,038
Signifikanz	$p < 0,001$	

Tab.24 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der resorbierenden Oberfläche pro Zotte diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

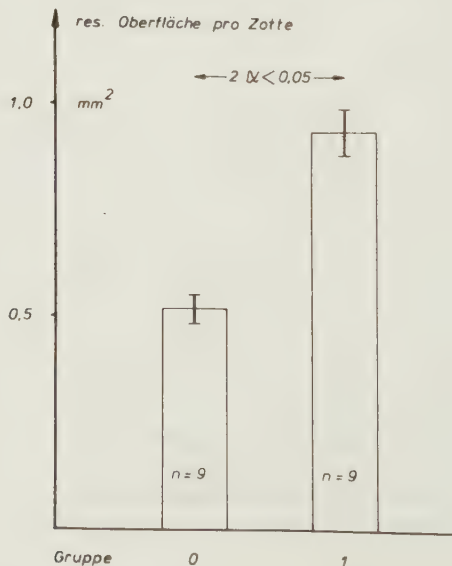
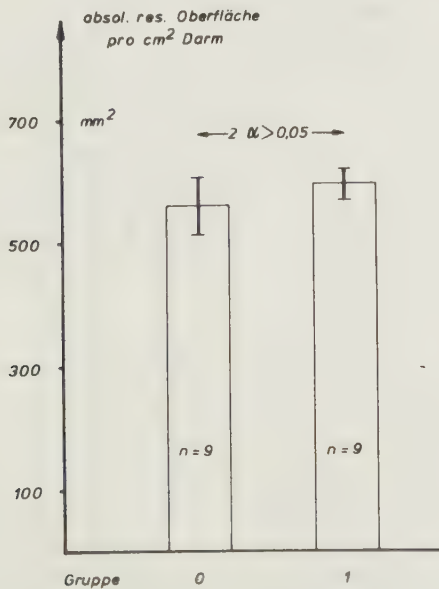


Abb.16 Resorbierende Oberfläche einer Zotte diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrollen Gruppe 0. Schranken = S.E.M.

Absolute resorbierende Oberfläche umgerechnet auf 1cm^2 Darm.
Tab.25, Abb.17; Es ist kein signifikanter Unterschied festzustellen!

Nr. des Tieres	Resorbierende Oberfläche pro cm^2 Darm (mm^2)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	599,9	613,2
2	538,0	637,2
3	558,5	586,4
4	550,2	572,2
5	435,4	659,7
6	465,0	639,3
7	526,2	511,0
8	755,1	577,2
9	635,9	549,9
Mittelwert	562,7	594,0
St.-Abweichung	94,6	47,7
St.-Abw.d. Mittelwertes	31,5	15,9
Signifikanz	$p > 0,05$	

Tab.25 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der
absol. res. Oberfläche pro cm^2 Darm diabetischer Ratten Gruppe 1
20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-
Test) und Angabe der Probabilitas (p)



Die Anzahl der Krypten pro Zotte bei diabetischen Ratten ist gegenüber den Kontrolltieren signifikant erhöht ($p < 0,01$).
Tab.26, Abb.18 (Verfahren zur Ermittlung der Anzahl der Krypten pro Zotte s.S.14-15)

Nr. des Tieres	Anzahl der Krypten pro Zotte	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	12,29	15,00
2	12,41	15,34
3	11,55	14,80
4	15,36	15,27
5	14,02	20,43
6	13,11	18,47
7	14,42	19,00
8	11,69	19,50
9	15,16	18,71
Mittelwert	13,33	17,39
St.-Abweichung	1,45	2,24
St.-Abw.d. Mittelwertes	0,48	0,74
Signifikanz	$p < 0,01$	

Tab.26 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Anzahl der Krypten diabetischer Ratten Gruppe 1 20Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

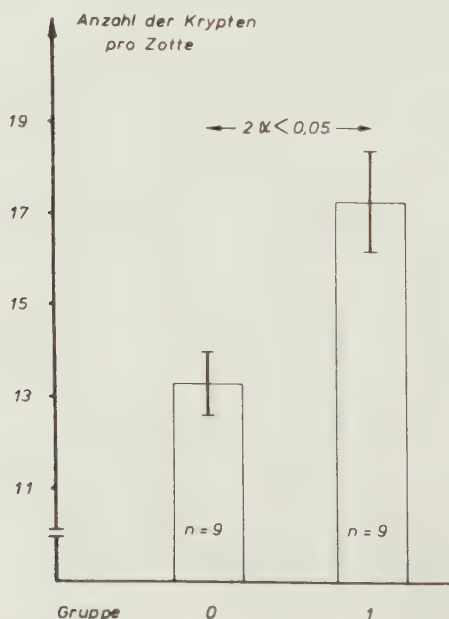


Abb.18 Anzahl der Krypten pro Zotte diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

Die Anzahl der Krypten pro mm^2 Darm hingegen ist bei diabetischen Ratten signifikant erniedrigt ($p < 0,01$), da die Anzahl der Zotten pro mm^2 Darm geringer ist (s.S.53-55).
 Tab.27, Abb.19 (Verfahren zur Ermittlung der Anzahl der Krypten Abb.20 pro mm^2 Darm s.S.14-15)

Nr. des Tieres	Anzahl der Krypten pro mm^2 Darm	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	136	90
2	149	112
3	159	108
4	150	106
5	132	125
6	125	106
7	151	121
8	139	115
9	157	108
Mittelwert	144,2	110,1
St.-Abweichung	11,7	10,0
St.-Abw.d. Mittelwertes	3,9	3,3
Signifikanz	$p < 0,01$	

Tab.27 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Anzahl der Krypten pro mm^2 Darm diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

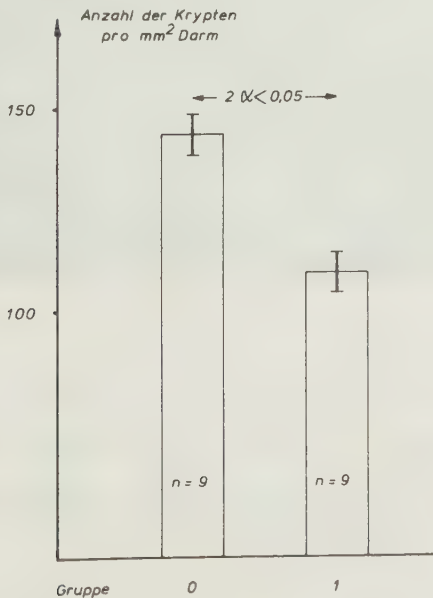


Abb.19 Anzahl der Krypten pro mm^2 Darm diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrollen Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

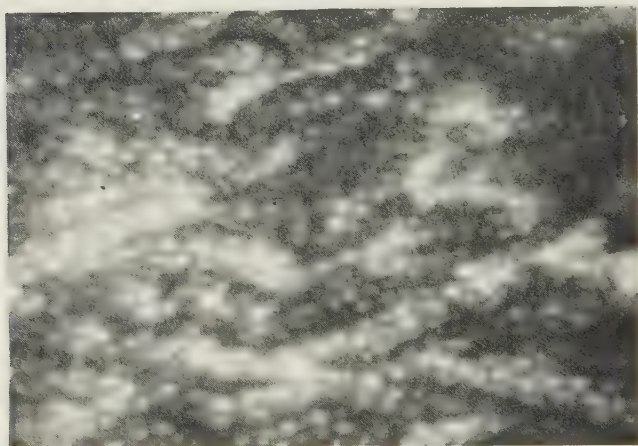
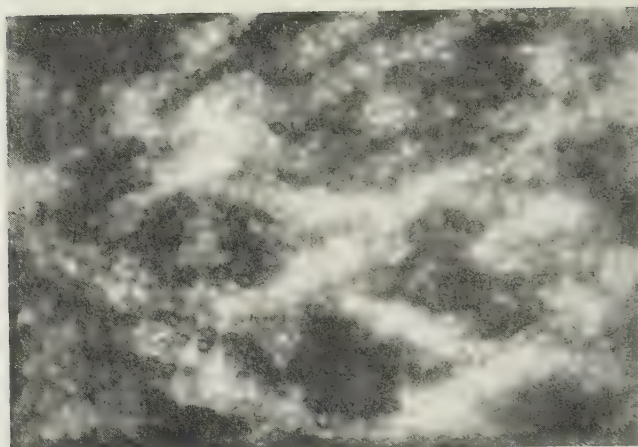


Abb.20 Dünndarmkrypten - Kryptenebene (125x vergrößert)

Bild oben: Krypten eines Kontrolltiers

Bild unten: Krypten einer diabetischen Ratte

(Aufnahme mit dem Photographierzusatz des Orthoplan-
Leitz-Mikroskops der Fa. Leitz, Wetzlar)

Die Anzahl der Mitosen pro Krypte ist bei den diabetischen Ratten signifikant erhöht gegenüber den Kontrolltieren ($p = 0,01$).
Tab.28, Abb.21 (Methode zur Ermittlung der Anzahl der Mitosen
Abb.22 pro Krypte s.S.14-16)

Nr. des Tieres	Anzahl der Mitosen pro Krypte	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	26,2	37,5
2	23,2	42,6
3	26,8	38,5
4	25,9	35,2
5	28,9	46,5
6	23,6	44,9
7	32,6	32,6
8	29,7	34,8
9	24,3	32,1
Mittelwert	26,80	38,30
St.-Abweichung	3,10	5,27
St.-Abw.d. Mittelwertes	1,03	1,75
Signifikanz	$p = 0,01$	

Tab.28 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der Anzahl der Mitosen pro Krypte im Dünndarm diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

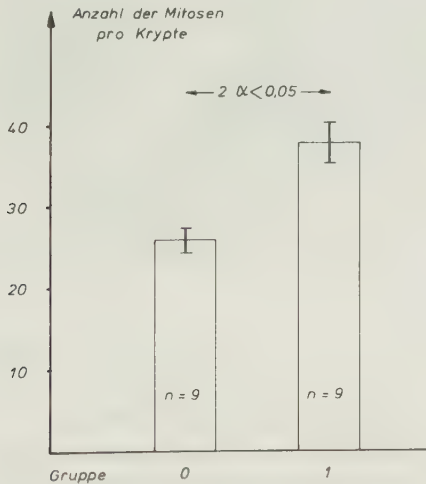


Abb.21 Anzahl der Mitosen pro Krypte im Dünndarm diabetischer Ratten Gruppe 1 und der Kontrollen Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

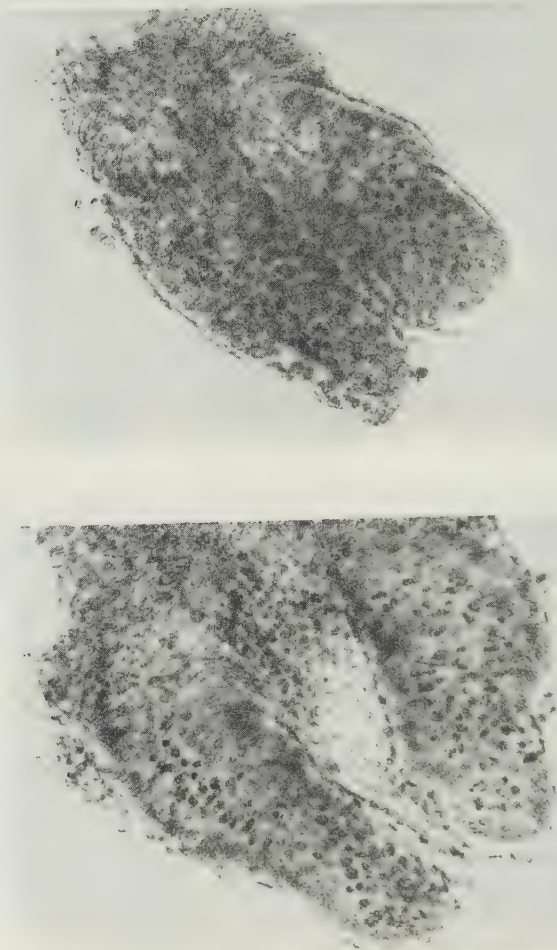


Abb.22 Mitoserate in den Krypten (500x vergrößert)
- 2 Std. nach intraperitonealer Injektion von
1mg Vincristin/kg Körpergewicht -
Bild oben: Krypten einer gesunden Ratte
Bild unten: Krypten einer diabetischen Ratte

I. Biochemische Befunde

1. Disaccharidasenaktivität

Die spezifische Aktivität der Lactase in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten ist gegenüber der von gesunden Tieren nur geringfügig verändert. Tab.29

Die Enzymaktivität der Maltase und Saccharase hingegen weist bei den Tieren mit 20 Tage bestehenden Diabetes mellitus einen signifikanten Anstieg gegenüber den Kontrolltieren auf ($p < 0,005$). Tab.30, Abb.23; Tab.31, Abb.24

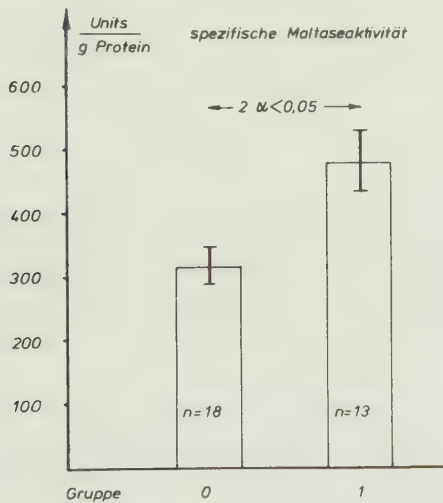


Abb.23 Spezifische Aktivität der Maltase in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.L.

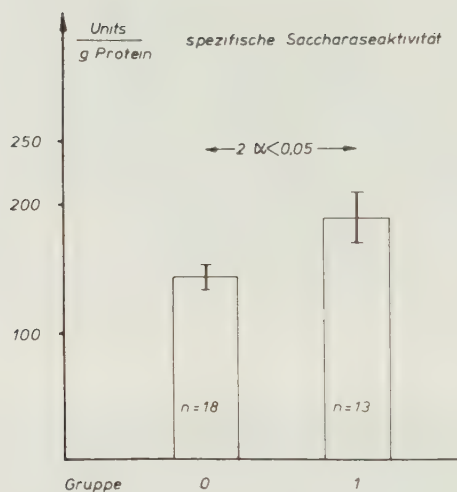


Abb. 24 Spezifische Aktivität der Saccharase in der Dünndarm-
schleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach
Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
Schranken = S.E.M.

Nr. des Tieres	Spezifische Lactaseaktivität (U/gProtein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	17,94	39,91
2	15,64	30,12
3	42,78	24,80
4	34,77	34,79
5	19,71	28,93
6	28,34	59,72
7	49,50	42,77
8	35,17	30,45
9	34,52	27,08
10	35,69	39,27
11	45,68	21,56
12	47,33	34,21
13	40,56	13,24
14	39,56	
15	32,84	
16	41,92	
17	29,60	
18	34,01	
Mittelwert	34,75	32,83
Standardabweichung	9,74	11,38
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	2,29	3,15
Signifikanz	p > 0,05	

Tab.29 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. Lactaseaktivität in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Nr. des Tieres	Spezifische Maltaseaktivität (U/gProtein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	222,4	290,9
2	225,6	559,7
3	420,8	439,7
4	276,2	403,9
5	294,9	352,9
6	287,4	662,5
7	431,0	546,5
8	437,4	528,6
9	329,8	478,3
10	308,5	503,7
11	254,5	424,7
12	282,5	612,0
13	302,4	397,2
14	298,9	
15	373,1	
16	356,9	
17	302,9	
18	311,1	
Mittelwert	317,6	477,0
Standardabweichung	63,9	105,4
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	15,0	29,2
Signifikanz	p < 0,001	

Tab. 70 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. Maltaseaktivität in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten: Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangebe und der Kontrolltiere Gruppe 0.

Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Nr. des Tieres	Spezifische Saccharaseaktivität (U/g Protein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	141,8	115,9
2	133,6	248,9
3	178,3	244,0
4	154,3	321,9
5	152,7	148,2
6	117,1	259,3
7	102,2	192,6
8	144,6	226,4
9	205,7	187,5
10	156,8	186,8
11	143,6	189,3
12	201,8	286,0
13	179,4	167,5
14	137,2	
15	219,9	
16	129,6	
17	128,2	
18	130,6	
Mittelwert	153,2	213,4
Standardabweichung	32,0	57,5
St.-Abw.d. Mittelwertes	7,5	15,9
Signifikanz	p < 0,01	

Tab.31 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. Saccharaseaktivität (Bestimmung mit TGO) in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

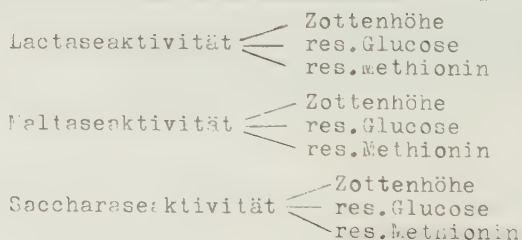
Zwischen der Zottenhöhe und den ermittelten Disaccharidasenaktivitäten läßt sich keine signifikante Korrelation erkennen. Eine positive Korrelation besteht aber eindeutig.

In der Korrelation zwischen resorbierter Glucose und den oben genannten Disaccharidasen ist eine negative Tendenz, in der Beziehung res. Methionin - Disaccharidasen dagegen eine positive Tendenz unverkennbar. Tab.32

(Die Korrelationen beinhalten die Meßwerte diabetischer Ratten.)

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient(r)	tan α	2 α
Lactaseakt. --Zottenhöhe	1	13	0,1708	67,972	>0,05
Maltaseakt. --Zottenhöhe	1	13	0,4332	1,681	>0,05
Saccharaseakt. --Zottenhöhe	1	13	0,4526	4,385	>0,05
Lactaseakt. --res.Glucose	1	13	-0,1085	-610,729	>0,05
Maltaseakt. --res.Glucose	1	13	-0,1784	-0,456	>0,05
Saccharaseakt. --res.Glucose	1	13	-0,3377	-4,102	>0,05
Lactaseakt. --res.Methionin	1	13	0,5919	3,122	>0,05
Maltaseakt. --res.Methionin	1	13	0,5340	0,196	>0,05
Saccharaseakt. --res.Methionin	1	13	0,2021	0,287	>0,05

Tab.32 Korrelationen:



2. Dipeptidasenaktivität

Die Aktivitäten der Glycyl-L-Leucin- und der L-Methionyl-Glycin-Dipeptidase sind bei diabetischen Ratten gegenüber den Kontrolltieren signifikant erhöht ($p < 0,05$). Tab.33,34; Abb.25,26

Die Aktivität der L-Phenylalanyl-L-Prolin-Dipeptidase dagegen ist deutlich vermindert ($p < 0,005$), während die spez. Aktivität der L-Phenylalanyl-Glycin-Dipeptidase bei diabetischen und gesunden Ratten annähernd gleich ist. Tab.35,36; Abb.27

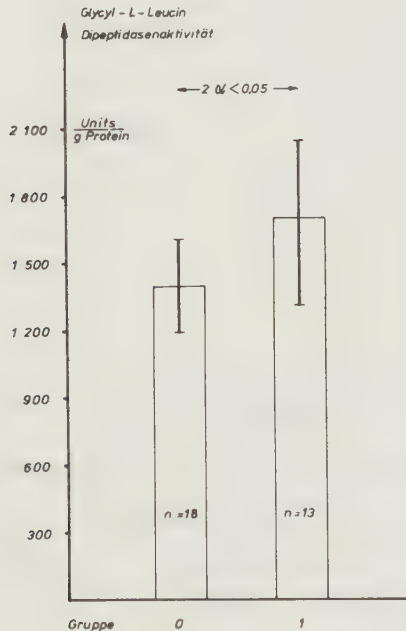


Abb.25 Spezifische Aktivität der Glycyl-L-Leucin-Dipeptidase in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken = S.E.M.

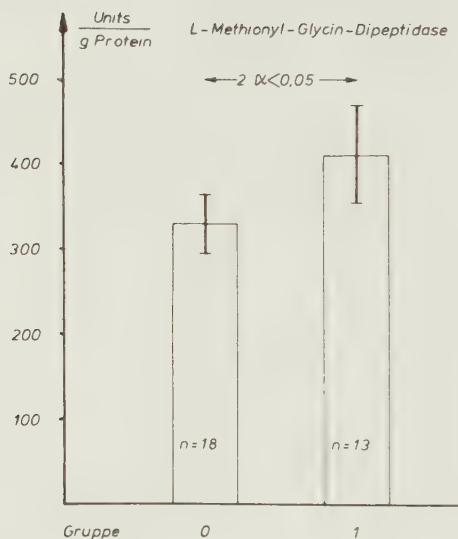


Abb.26 Spezifische Aktivität der L-Methionyl-Glycin-Dipeptidase in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken=S.E.M.

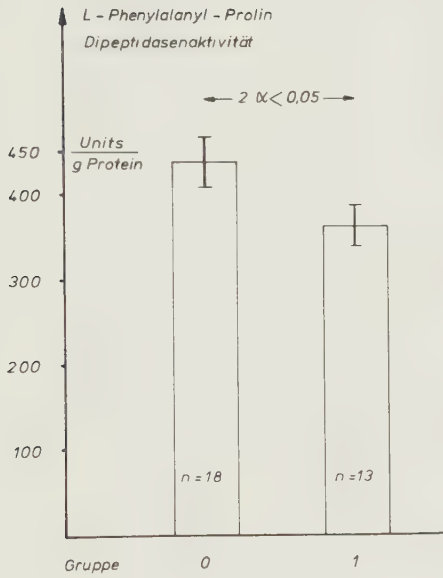


Abb.27 Spezifische Aktivität der L-Phenylalanyl-Prolin-Dipeptidase in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Schranken = S.E.M.

Nr. des Tieres	G l y c y l - L - L e u c i n -	
	Lipeptidasenaktivität (U/gProtein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	1814,1	3958,6
2	1410,4	1165,6
3	1244,6	1933,6
4	935,0	1192,4
5	1431,8	937,3
6	1706,6	1627,5
7	2178,8	1989,3
8	1825,6	1813,4
9	1362,2	1055,7
10	940,6	1538,6
11	1837,0	1764,4
12	2167,6	2330,4
13	1092,4	1185,4
14	937,0	
15	950,8	
16	1600,0	
17	953,7	
18	1137,6	
Mittelwert	1418,1	1729,6
Standardabweichung	427,0	789,5
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	100,6	218,9
Signifikanz	p < 0,05	

Tab.33 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. Glycyl-L-Leucin-Dipeptidasenaktivität in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Rangtest nach Wilcoxon) und Angabe der Probabilitas (p).

Nr. des Tieres	L - M e t h i o n y l - G l y c i n - Dipeptidasenaktivität (U/gProtein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	356,4	598,9
2	311,4	435,4
3	273,7	385,4
4	207,1	429,4
5	498,5	217,1
6	323,8	452,3
7	422,1	427,3
8	399,2	465,2
9	372,8	195,4
10	231,9	375,0
11	338,2	528,6
12	322,7	518,9
13	311,5	292,0
14	257,3	
15	282,7	
16	347,4	
17	314,6	
18	373,6	
Mittelwert	330,3	408,5
Standardabweichung	69,8	117,1
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	16,4	32,4
Signifikanz	p < 0,05	

Tab.34 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. L-Methionyl-Glycin-Dipeptidasenaktivität in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Nr. des Tieres	L - P h e n y l a l a n y l - L - P r o l i n -	
	Dipeptidasenaktivität Gruppe 0	(U/gProtein) Gruppe 1
1	393,1	434,8
2	319,7	419,3
3	376,1	412,0
4	464,3	359,7
5	489,5	363,9
6	433,4	364,8
7	479,8	380,2
8	481,9	354,7
9	483,0	335,1
10	368,7	366,3
11	552,6	365,4
12	452,5	322,7
13	457,9	251,9
14	399,3	
15	400,3	
16	410,8	
17	541,1	
18	405,3	
Mittelwert	439,4	363,9
Standardabweichung	60,7	46,4
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	14,3	12,8
Signifikanz	p < 0,005	

Tab.35 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. L-Phenylalanyl-L-Prolin-Dipeptidasenaktivität in der Dünndarmschleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxangabe und der Kontrolltiere Gruppe 0. Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Nr. des Tieres	L - P h e n y l a l a n i n - G l y c i n -	
	Dipeptidasenaktivität (U/gProtein)	
	Gruppe 0	Gruppe 1
1	228,9	178,3
2	169,6	298,1
3	180,6	306,6
4	185,7	225,3
5	248,4	108,7
6	211,1	220,8
7	252,9	204,1
8	308,2	210,1
9	259,3	153,5
10	189,8	198,0
11	247,1	275,6
12	196,0	234,5
13	198,4	136,1
14	184,4	
15	213,8	
16	224,4	
17	220,0	
18	176,2	
Mittelwert	216,3	211,5
Standardabweichung	36,2	59,4
St.-Abw.d.		
Mittelwertes	8,5	16,4
Signifikanz	p > 0,05	

Tab.36 Meßwerte und Standardabweichung der Meßwerte der spez. L-Phenylalanyl-Glycin-Dipeptidasenaktivität in der Dünndarm-schleimhaut diabetischer Ratten Gruppe 1 20 Tage nach Alloxan-gabe und der Kontrolltiere Gruppe 0.
 Statistischer Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 0 (Student-Test) und Angabe der Probabilitas (p).

Zwischen der Zottenhöhe und den ermittelten Dipeptidaseaktivitäten der diabetischen Tiere ist keine signifikante Korrelation erkennbar. Interessant ist die negative Korrelation bei der L-Phenylalanyl-Prolin-Dipeptidase, deren Aktivität gegenüber der bei den Kontrolltieren vermindert war, während die anderen Dipeptidasen in einer positiven Beziehung - statistisch aber nicht nachweisbar - zur Zottenhöhe stehen.

In der Korrelation res.Glucose - bestimmte Dipeptidasen der diabetischen Tiere ist zwar keine signifikante aber doch deutliche negative Tendenz nachzuweisen. Statistisch läßt sich der Befund jedoch nicht sichern.

In der Korrelation res.Methionin - bestimmte Dipeptidasen ist keine einheitliche Tendenz festzustellen. Tab.37

Korrelation	Gruppe	n	Korrelationskoeffizient(r)	$\tan \alpha$	2α
Glycyl-L-Leucin-Pipec. --Zottenhöhe	1	13	0,0067	160,9838	>0,05
L-Methionyl-Glycin-Pipec. --Zottenhöhe	1	13	0,1484	2,1930	>0,05
L-Phenylalanyl-Prolin-Pipec. --Zottenhöhe	1	13	-0,2034	-12,4705	>0,05
L-Phenylalanyl-Glycin Pipec. --Zottenhöhe	1	13	0,5710	5,0347	>0,05
Glycyl-L-Leucin-Pipec. --res.Glucose	1	13	-0,2844	-4,7986	>0,05
L-Methionyl-Glycin-Pipec. --res.Glucose	1	13	-0,4497	-0,4457	>0,05
L-Phenylalanyl-Glycin-Pipec. --res.Glucose	1	13	-0,5734	-3,4034	>0,05
L-Phenylalanyl-Prolin-Pipec. --res.Glucose	1	13	-0,1175	-11,3232	>0,05
Glycyl-L-Leucin-Pipec. --res.Methionin	1	13	0,1680	0,2472	>0,05

Korrelation	Gruppe	n	Korrelations- koeffizient(r)	$\tan \alpha$	2α
L-Methionyl- Glycin-Dipep. --res.Methionin	1	13	-0,7481	-0,9137	>0,05
L-Phenylalanyl- Prolin-Dipep. --res.Methionin	1	13	0,0130	0,0208	>0,05
L-Phenylalanyl- Glycin-Dipep. --res.Methionin	1	13	-0,2978	-0,3406	>0,05

Tab.37 Korrelationen:

Zottenhöhe	-	best. Lipeptidasen
res. Glucose	-	best. Lipeptidasen
res. Methionin	-	best. Lipeptidasen

DISKUSSION

Wie bereits in den Untersuchungen von LORENZ-MEYER et al. (1974) am Modell des experimentellen Diabetes mellitus nach Alloxan-intoxikation gezeigt, konnte auch in dieser Studie keine Erhöhung der Glucoseresorption pro cm^2 Darmfläche und Minute nachgewiesen werden. Für das Methionin ergab sich sogar eine leicht verminderte Resorption; diese Minderung war jedoch nicht signifikant.

Die morphometrischen Analysen zur effektiv resorbierenden Darmoberfläche (unter Berücksichtigung der res. Oberfläche pro Zotte und der Zottenzahl pro cm^2 Darm) zeigen, daß die resorbierende Oberfläche trotz erheblich hypertrophierter Zotten pro Flächeneinheit Mukosa nicht zunimmt. Hieraus folgt, Konstanz der Resorptionskinetik vorausgesetzt, daß die Resorptionskapazität der effektiven resorbierenden Oberfläche für das Kontrollkollektiv und die alloxandiabetischen Tiere gleich ist. Geht man von der Voraussetzung aus, daß die histochemisch bestimmbaren Enzymaktivitäten ein Maß für die funktionelle Aktivität des Enterocyten (RIECKEN, 1970) darstellen, so geben auch die mikrodensitometrischen Meßergebnisse verschiedener Enterocytengebundener Enzymaktivitäten der Vorstudie (LORENZ-MEYER et al., 1974) einen Hinweis, daß unter den Bedingungen des Versuchs ein wesentlicher funktioneller Unterschied zwischen der Zelleistung des Enterocyten des alloxandiabetischen Tieres und des Kontrolltieres nicht zu bestehen scheint. Andererseits fand sich in unseren Untersuchungen eine Zunahme biochemisch gemessener Disaccharidase- und Di-

peptidaseaktivitäten, während die L-Phenylalaninyl-Prolin-Dipeptidaseaktivität vermindert war, so daß Partialfunktionen der Zelle durchaus verändert sind.

Die hier beschriebenen Veränderungen beziehen sich auf die Spätphase (20.Tag) des Diabetes mellitus. Sie stehen somit im Gegensatz zu den ausgeprägten Steigerungen der Zellfunktion in der Frühphase (1.-5.Tag), in der morphologische Veränderungen fehlen (CASPARY, 1972; OLSEN, 1973).

Daß es trotz weitgehend gleichbleibender funktioneller Leistung des Enterocyten in der Resorption pro Flächeneinheit Mukosa dennoch beim länger bestehenden Diabetes zu einem erheblichen Anstieg der Resorptionsleistung des Gesamtdarms kommt (SCHEDL, WILSON, 1971), ist erklärt mit einer Hypertrophie des Gesamtdarms. Die dabei auftretende Zunahme der effektiv resorbierenden Oberfläche kommt durch Zunahme des Durchmessers und der Darmlänge zustande (SCHEDL, 1971).

Die erste unserer eingangs gestellten Fragen läßt sich somit wie folgt beantworten: Die in vivo gemessene Glucose- und Methionin-Resorption pro Flächeneinheit Mukosa ist beim länger alloxandibetischen Tier (unter den Bedingungen des Versuchs) nicht signifikant verändert. Eine Erhöhung der Transportleistung pro Gesamtdarm kommt jedoch durch eine Größenzunahme des Darmes zustande. Die enzymatischen Befunde weisen darüber hinaus auf eine Änderung von Partialfunktionen des Enterocyten hin.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit war, die Frage abzuklären, auf Grund welcher Mechanismen es zu der oben beschriebenen Zottenhypertrophie kommt. In der Vorstudie konnte im

Gegensatz zu den zonalen Umbauvorgängen bei der einheimischen Sprue beim experimentellen Diabetes mellitus der Ratte ein signifikanter Anstieg des Quotienten Zottenhöhe/Kryptentiefe beobachtet werden. Um nähere Aufschlüsse über die formale Pathogenese der beobachteten Schleimhautveränderungen zu erhalten, wurden unter Verwendung der von CLARKE angegebenen Methode mehrdimensionale quantitative und zellkinetische Untersuchungen an der Mukosa durchgeführt. Wie oben ausgeführt wurde der Anstieg des Quotienten Zottenhöhe/Kryptentiefe bestätigt. Dabei nahm die Anzahl der Krypten pro Zotte deutlich zu, während sich die absolute Zahl der Krypten pro Flächeneinheit Mukosa verminderte. Aus der Abbildung 20 geht hervor, daß sich dieser Befund durch eine Verbreiterung der Zotten erklärt. Sie konnte lupenmikroskopisch konstant beobachtet werden.

Die in dieser Arbeit gezeigte signifikante Zunahme der Mitosen pro Einzelkrypte ist bei gleichbleibender Kryptentiefe mit einer Zunahme des Kryptendurchmessers erklärt, die ebenfalls aus Abb.20 erkennbar ist.

Die Frage nach der formalen Genese der Schleimhautveränderungen führt zu der Frage nach ihren Ursachen. In der Vorstudie wurden zwei Hypothesen diskutiert: Eine negative Korrelation zwischen Zottenhöhe und Blutzucker hatten auf der einen Seite an eine kompensatorische Zottenhypertrophie zum Ausgleich der gehemmten Resorption denken lassen. Eine positive Korrelation zwischen Futtermenge und Zottenhöhe auf der anderen Seite ließen an einen nutritiven Effekt der Ingesta bei bekannter Hyperphagie der alloxandiabetischen Tiere denken.

In den verschiedenen Kollektiven dieser Arbeit konnte in jedem Fall eine hochsignifikante Korrelation zwischen der täglichen Futterzufuhr und der Zottenhöhe gefunden werden. Diese Befunde sprechen daher sehr für einen topischen Einfluß der Nahrung ("luminal nutrition") auf die Zellproliferation der Schleimhaut (DOWLING, 1967).

In einer in diesem Labor durchgeführten Studie (MENGE et al., 1975), in der durch die Perfusion isolierter selbstentleerer Dünndarmschlingen mit verschiedenen metabolisierbaren Substanzen ein möglicher nutritiver Einfluß direkt geprüft wurde, konnte ein deutlich stimulierender Effekt metabolisierbarer Energieträger (Glucose und Methionin) beobachtet werden. Dabei fand sich in guter Übereinstimmung mit dieser Studie keine Zunahme der Kryptentiefe trotz Zunahme der Zottenhöhe. Beide Untersuchungen sprechen somit für einen wesentlichen Einfluß der luminalen Ernährung auf das Schleimhautwachstum.

Die von LORENZ-MEYER et al.(1974) gefundene Beziehung zwischen Blutzucker und Resorption bzw. Zottenhöhe wurde in unseren Untersuchungen im Trend bestätigt. Signifikante Beziehungen, die an einen wesentlichen Stimulus zur Entwicklung der Hypertrophie hätten denken lassen können, konnten jedoch nicht nachgewiesen werden.

In zusätzlichen Perfusionsexperimenten schließlich sollte diese Arbeit Aufschluß über eine Beeinflussung von Resorptionsvorgängen bei hohen Blut-Lumen Gradienten bestimmter Substanzen -hier der Glucose- geben. Voraussetzung einer solchen Beeinflussung wäre neben dem aktiven Transport eine deutliche Diffusionskomponente. Um eine derartige mögliche Diffusions-

komponente gegebenenfalls nachzuweisen, wurden Perfusionsversuche mit Glucose-freiem Medium durchgeführt. Der Zusatz von Phlorizin zum Medium sollte dabei einen aktiven Rücktransport ins Lumen diffundierter Glucose verhindern. Dabei zeigte sich, daß selbst bei extrem hohen Blutzuckerwerten und Glucose-freiem Perfusat keine Rückdiffusion von Glucose in das Lumen des Darms eintrat.

Diese Ergebnisse widerlegen einen wesentlichen Einfluß des beim Diabetes mellitus erheblich erhöhten Blutzuckers auf die Resorption und damit mittelbar auf die Umbauvorgänge der Schleimhaut.

Somit läßt sich die zweite der bearbeiteten Fragen wie folgt beantworten:

Die beim länger bestehenden Alloxan-Diabetes beobachtete Schleimhautveränderung ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des Quotienten Zottenhöhe/Kryptentiefe und durch eine Zunahme der Mitosen. Damit ist sie charakterisiert als Hypertrophie. Während die übrigen Befunde dafür sprechen, daß die Erhöhung des Glucosespiegels bei der Entwicklung dieser morphologischen Veränderungen keine Rolle spielt, kommt dem lokalen Nahrungsangebot bei nachgewiesener Hyperphagie entscheidende Bedeutung zu.

ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von dem beim experimentellen Diabetes mellitus unter in vitro-Bedingungen nachgewiesenen Befund einer gesteigerten Resorptionskapazität und einer Zunahme der Bürstensaumbundenen Enzymaktivitäten, wurden in dieser Arbeit unter in vivo-Bedingungen Resorptionsgrößen von Glucose und Methionin im Dünndarm gemessen sowie Enzymaktivitäten des Enterocyten biochemisch bestimmt. Die Schleimhautstrukturen von alloxan-diabetischen und gesunden Ratten wurden morphometrisch (mit einer nach R. CLARKE modifizierten Mikrodissektionstechnik) untersucht. Der Alloxan-Diabetes bei den für die Experimente verwandten Tiere bestand 20 Tage. Während dieses Zeitraumes wurde die täglich aufgenommene Futtermenge gemessen.

Diese Untersuchungen sollten Aufschluß über die bislang unearbeiteten Fragen geben:

1. Welche Beziehung besteht zwischen der in vivo gemessenen Resorption von Glucose und Methionin und den intestinalen Enzymaktivitäten? Wie verhalten sich diese Parameter zur effektiv resorbierenden Oberfläche?
2. Lassen sich durch das Studium der formalen Pathogenese der in der Spätphase beim experimentellen Diabetes mellitus beschriebenen Schleimhautveränderungen Rückschlüsse auf deren Ursachen gewinnen?

Die folgenden Ergebnisse wurden gewonnen:

1. Zwischen der täglich aufgenommenen Futtermenge und dem Ausmaß der Zottenhypertrophie besteht eine signifikante lineare positive Korrelation.
2. Die Anzahl der Zotten pro Flächeneinheit Mukosa ist umgekehrt proportional zur Oberfläche der Einzelzotte, d.h. die resorbierende Zottenoberfläche/cm² Darm bleibt konstant.

3. Die Gesamt-Darmfläche nimmt jedoch beim Diabetes mellitus signifikant zu.
4. Bei signifikant erhöhten Mitosezahlen/Krypte kommt es zu einer Verbreiterung, nicht aber zu einer Vertiefung der Krypten.
5. Die resorbierte Glucose- und Methionin-Menge pro Darmflächeneinheit steigt beim Diabetes mellitus nicht an, wohl aber pro Gesamtdarm.
6. Partialfunktionen des Enterocyten sind verändert: Die bestimmten Disaccharidase- und einige der Dipeptidaseaktivitäten sind bei den alloxandiabetischen Tieren erhöht, die L-phenylalanyl-Prolin-Dipeptidaseaktivität ist vermindert.
7. Die Glucoseresorption wird durch den beim Diabetes mellitus extrem hohen Blut-Lumen-Gradienten nicht beeinflusst; es findet kein Austritt von Glucose aus dem Blut ins Darmlumen statt.

Damit beantworten sich die untersuchten Fragen wie folgt:

1. Die in vivo gemessene Glucose- und Methionin-Resorption pro Flächeneinheit Mukosa ist beim länger alloxandiabetischen Tier (unter den Bedingungen des Versuchs) nicht signifikant verändert. Eine Erhöhung der Transportleistung pro Gesamtdarm kommt jedoch durch eine Größenzunahme des Darmes zustande. Die enzymatischen Befunde weisen darüber hinaus auf eine Änderung von Partialfunktionen des Enterocyten hin.
2. Die beobachtete Schleimhautveränderung ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des Quotienten Zottenhöhe/Kryptentiefe und durch eine Zunahme der Mitosen. Damit ist sie charakterisiert als Hypertrophie. Dem lokalen Nahrungsangebot kommt dabei für die Entstehung dieser Mukosaveränderungen offenbar die entscheidende Bedeutung zu.

VERZEICHNIS DER BENUTZTEN ABAÜRZUNGEN

ADP - Adenosindiphosphat

ATP - Adenosintriphosphat

GL - 6 - PDH - Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

HK - Hexokinase

NADP - Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat

NADPH - reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat

PR - Phenolrot

S.E.M. - Standard Error Means

TGO - Trisglucoseoxydase

LITERATURVERZEICHNIS

- Altmann, G.G. & Enesco, M.: Cell number as a measure of distribution and renewal of epithelial cells in the small intestine of growing and adult rats
Am.J.Anat. 120 319-336 1967
- Antonioli, J.-A., Robinson, J.W.L. & Vanotti, A.: Kinetics of intestinal amino-acid transport in vivo
Unveröffentlicht- Département de Pharmacologie clinique & de Chirurgie Expérimentale, Hôpital Cantonal Universitaire, Lausanne, Suisse
- Aulsebrook, K.A.: Intestinal transport of Glucose and sodium: Changes in alloxan diabetes and effects of insulin
Experientia 21 346-347 1965
- Auricchio, S., Rubino, A., Tosi, R., Semenza, G., Landolt, M., Kistler, H. und Prader, A.: Disaccharidase activities in human intestinal mucosa
Enzymmol.biol.clin. 3 193-208 1963
- Auricchio, S., Pierro, M., Orsatti, M.: Assay of peptidase activities of intestinal brush border with L-amino acid oxidase
Analyt.Biochem. 39 15-23 1971
- Axelrod, A.D., Lawrence, A.L., Hazelwood, R.L.: Fasting and alloxan diabetes effects on intestinal transport of monosaccharides
Am.J.Physiol. 219 860-865 1970
- Bloch, R., Menge, H., Lorenz-Meyer, H., Riecken, E.O.: Morphological and biochemical changes of jejunal mucosa in rats with selffilling blind loops without and with bile diversion
Abstracts of international conference of intestinal adaptation Titisee 1973

- Caspary, W.F.: Increase of digestive and transport functions of intestinal mucosa from streptozotocin-diabetic rats
Eur.J.of Clin.Invest. 2 1971/72
- Caspary, W.F.: Intestinal transport mechanism for amino acids derived from dipeptides
Eur.J.of Clin.Invest. 2 1971/72
- Caspary, W.F.: Interaction of dipeptide absorption and transport of free amino acids
Biochemical and clinical aspects of peptide and amino acid absorption 29-40
Conference on biochemical and clinical aspects of peptide and amino acid absorption - Titisee 1972 Rommel, K. und Goebell, H. - F.K. Schattauer Verlag Stuttgart 1973
- Clarke, R.M.: Mucosal architecture and epithelial cell production rate in the intestine of the albino rat
J.Anat. 1970, 107, 3, pp.519-529
- Clarke, R.M.: A comparative analysis of methods of estimating the size of cell populations from microtome sections
Jl R.microsc.Soc., 1968, 88, 189-203
- Clarke, R.M.: Cell migration in epithelium of the small intestine
J.Anat. 106, 175 1969
- Crane, R.K.: An effect of alloxan-diabetes on the active transport of sugars by rat small intestine, in vitro
Biochem.Biophys.Res.Com. 4 436-440 1961
- Creamer, B., Shorter, R.G. & Bamforth, J.: The turnover and shedding of epithelial cells. I: the turnover in the gastrointestinal tract.
Gut 2, 110-116, 1961
- Dahlquist, A.: Method for assay of intestinal disaccharidases
Analyt.Biochem. 7 18-25 1964

- Dowling, R.H. & Boota, C.C.: Structural and functional changes following small intestinal section in the rat
Clin.Sci. 32 139-150 1967
- Dowling, R.H., Riecken, E.O.: Intestinal adaptation
Proceedings of an International Conference of the Anatomy, Physiology and Biochemistry of Intestinal Adaptation
Titisee, 1973, Schattauer Verlag Stuttgart
- Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen
7.Auflage 1968
- Richholz, A.: Studies on the organization of the brush border in intestinal epithelial cells
V. Subfractionation of enzymatic activities of microvillus membrane
Biochim.Biophys.Acta 163 101-107 1968
- Esposito, G.: Intestinal absorption of sugars in semi-starved rats
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 125 452-455 1969
- Flores, P., Schedl, H.P.: Intestinal transport of 3-o-methyl-D-glucose in the normal and alloxan-diabetic rat
Am.J.Physiol. 214 725-729 1968
- Förster, H., Mehnert, H.: Experimentelle Untersuchungen zur aktiven Resorption von Zuckern am lebenden Tier
I. Mitteilung: Zur Frage einer Substratsättigungskurve für die Resorption von Glucose und Galaktose
Klin.Wschr. 15 834-849 1965
- Förster, H., Hoos, I.: The excretion of sodium during the active absorption of glucose from the perfused small intestine of rats
Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. Bd 353 88-94 1972
- Förster, H., Menzel, B.: Untersuchung der intestinalen Glucose-

- resorption bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration
Zeitschr.f.Ernährungswiss. Bd 11 1 10-23 1971
- Frerichs, H., Creutzfeldt, W.: Diabetes durch Beta-Zytotoxine
Handbuch des Diabetes mellitus Bd I 809-840
Ernst Pfeifer Lehmanns-Verlag, München 1969
- Holmes, R., Hourihane, D.O'B. & Booth, C.C.: Dissecting micro-
scope appearances of jejunal biopsy specimens from patients
with 'idiopathic steatorrhea'
Br.med.J. 1 81-83 1961
- Hossain, Z., Levinson, R.A., Englert, E.: Endocrine induction
of small intestinal hexokinase and maltase activity
Gastroenterology 58 961 1962
- Hyvärinen, A., Nikkilä, E.A.: Specific determination of blood-
glucose with o-toluidine
Clin.Chem.Acta 7 140-143 1962
- Jervis, E.L., Levin, R.J.: Anatomic adaptation of the ali-
mentary tract of the rat to the hyperphagia of chronic
alloxandibabetes
Nature 210 391-393 1966
- Kumaran, P., Turner, C.W.: Effect of alloxan on feed-consump-
tion in rat
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 119 400-402 1965
- Levin, R.J.: An unified concept of the effects of partial or
complete reduction of dietary intake on intestinal active
hexose absorption
Abstracts of international conference of intestinal adap-
tation Titisee 1973
- Levinson, R.A., Englert, E.: Intestinal absorption of sugars,
water and sodium in alloxan-diabetic rats
Diabetes 19 683-687 1970

- Lorenz-Meyer, H., Gottesbühren, H., Menge, H., Bloch, R.,
Riecken, E.O.: Intestinal structure and function in re-
lation to blood sugar levels and food intake in experi-
mental diabetes
Abstracts of international conference of intestinal adap-
tation Titisee 1973
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.:
Protein measurement with the folin phenol reagent
J.Biol.Chem. 193 265-275 1951
- Lukens, F.D.W.: Alloxan diabetes
Physiol.Reviews 28 304-330 1948
- Miller, D., Crane, R.K.: The digestive function of the epi-
thelium of the small intestine
II. Localization of disaccharide hydrolysis in the isolated
brush border portion of the intestinal epithelial cells
Biochim.Biophys.Acta 52 293-298 1961
- Menge, H., Bloch, R., Schaumlöffel, E., Riecken, E.O.: Trans-
portstudien, morphologische, morphometrische und histo-
chemische Untersuchungen zum Verhalten der Dünndarm-
schleimhaut im operativ ausgeschalteten Jejunalsegment
der Ratte
Z.ges.exp.Med. 153 74-90 1970
- Menge, H., Müller, K., Lorenz-Meyer, H., Riecken, E.O.: Unter-
suchungen zum Einfluß von Methionin- und Methionin-Glucose-
Lösungen auf Morphologie und Funktion der Schleimhaut
selbstentleerender jejunaler Blindschlingen der Ratte
Virchows Archiv B Cell Path. 18, 135-143 Springer-Verl.(1975)
- Miller, D.L., Schedl, H.P.: Nonabsorbed indicators: A com-
parison of phenol red and inulin-C¹⁴ and effect of per-
fusion technique
Gastroenterology 62 48-55 1972

- Olson, W.A., Rosenberg, I.H.: Intestinal transport of sugars and amino acid in diabetic rats
J.Clin.Invest. 49 96-105 1970
- Olson, W.A.: Intestinal adaptation in experimental diabetes
Abstracts of international conference of intestinal adaptation Titisee 1973
- Pauls, F., Drury, D.R.: The rate of glucose absorption from the intestine of diabetic rats
Am.J.Physiol. 137 242-245 1942
- Rhodes, J.B., Eichholz, A., Crane, R.K.: Studies on the organization of the brush border in intestinal epithelial cells IV. Aminopeptidase activity in microvillus membranes of hamster intestinal brush borders
Biochim.Biophys.Acta 135 959-965 1967
- Riecken, E.O., Rosenbaum, R., Bloch, R., Menge, H., Ritt, E., Aslan, M., Dölle, W.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Spezifität der Dünndarmschleimhautveränderungen bei der einheimischen Sprue
Klin.Wschr. 47 202-214 1969
- Riecken, E.O.: Die normale Dünndarmschleimhaut und ihre Veränderungen bei der einheimischen Sprue
Dtsch.Med.Wschr. 95 2295-2303 1970
- Robinson, J.W.L.: Interactions between Neutral and Libasic Amino Acids for Uptake by the Rat Intestine
- Schedl, H.P., Wilson, H.D.: Effects of diabetes on intestinal growth and transport in the rat
Am.J.Physiol. 220 1739-1745 1971
- Schmidt, H.F.: Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander
Klin.Wschr. 39 1244-1247 1961

Schmidt, H.F.: Enzymatische Methoden zur Bestimmung von Blut-
und Harnzucker unter Berücksichtigung von Vergleichs-
untersuchungen mit klassischen Methoden
Internist 4 554-559 1963

Wimber, D.R. & Lamerton, L.F.: Cell population studies on the
intestine of continuously irradiated rats
Radiat.Res. 18 137-146 1963

LEBENS LAUF

Am 25.Dez.1946 wurde ich, Franz Thiel, als Sohn des heutigen Oberzugschaffners a.D. Josef Thiel (gest. am 19.1.1975) und seiner Ehefrau Elisabeth Thiel geb.Hess in Kronsdorf, Kreis Jägerndorf (CSSR), geboren. Im Jahre 1949 mußten wir unsere Heimat verlassen und übersiedelten in die Bundesrepublik Deutschland nach Eschwege. Dort besuchte ich von Ostern 1953 bis Ostern 1957 die katholische Volksschule. Dann wechselte ich über an das Realgymnasium in Eschwege. Nach der Versetzung in die Quarta, Ostern 1959, kam ich nach Fulda, um dort das humanistische Gymnasium, die Rabanus-Maurus-Schule, zu besuchen. Im Januar 1966 verließ ich diese Schule und arbeitete von diesem Zeitpunkt bis Ende 1967 an einer Bibliothek in Wiesbaden. Anfang 1968 zog ich um nach Kassel, wo ich bei einem Musikverlag Anstellung fand.

Von Ostern 1968 bis Januar 1970 besuchte ich neben meiner Tätigkeit im Verlag das Abendgymnasium in Kassel, an dem ich am 27.Jan.1970 das Abitur ablegte.

Zum Sommersemester 1970 begann ich in Marburg das Studium der Biologie, Chemie und Anglistik. Im Oktober 1970 wechselte ich die genannten Studienfächer und studierte vom Winterhalbjahr 1970/71 an Zahnheilkunde. Das Sommersemester wurde mir auf das Studium der Zahnheilkunde als ein Semester anerkannt.

Am 24.März 1971 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, die Zahnärztliche Vorprüfung am 15.Sept.1972 und die Zahnärztliche Prüfung am 10.Juli 1975.

Seit dem 27.Sept.1972 bin ich verheiratet. Mein Hauptwohnsitz ist derzeit: 3500 Kassel, Druseltalstraße 31.

VERZEICHNIS MEINER AKADEMISCHEN LEHRER

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Herren Professoren :

Amon, Aurich, Bernhardt, Bode, Dehnicke, Dimroth, Haberich, Hensel, Hering, Heuser, Hort, Janke, Karlson, Koecke, Niemeyer, Nultsch, Petry, Pfütz, Richter, Riecken, Rohen, Rupec, Schienbein, Schiff, Schmidt H.F.M., Schmitz-Moormann, Schneider, Schnell, Seidel, Walcher, Wiegand und Frau Prof.Dr. I. Hennis.

Zugleich möchte ich an dieser Stelle meinen Lehrern danken für die mir erwiesene Unterstützung während des Studiums und bei dieser Arbeit.

